



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA ZOOTÉCNICA**

**“SITUACIÓN ACTUAL DE LA BRUCELOSIS Y TUBERCULOSIS BOVINA EN LA  
PROVINCIA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS”**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Previa a la obtención del título de:**

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**AUTOR**

**DARÍO FABIÁN ANDRADE ANDRADE**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2016**

Este trabajo de titulación fue aprobado por el siguiente Tribunal

---

Dr. Cesar Antonio Camacho León.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

---

Dr. Noé Francisco Rodríguez González.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

---

Dr. Antonio José Morales de la Nuez.

ASESOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Riobamba, 24 de junio de 2016

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Darío Fabián Andrade Andrade, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y que los resultados del mismo son auténticos y originales.

Los textos constantes en el documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad de los contenidos encontrados en el presente trabajo de titulación.

Riobamba, 24 de junio de 2016

-----

Darío Fabián Andrade Andrade

C.I. 172233860-3

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios, por darme vida, salud y la oportunidad de culminar con éxito todos mis estudios.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en especial a la Facultad de Ciencias Pecuarias, por su gran acogida y enseñanza, de la misma manera mi más sincero agradecimiento a los docente y empleados de la Carrera de Ingeniería Zootécnica, especialmente al Dr. Noé F. Rodríguez y Dr. Antonio Morales de la Nuez, por todo el apoyo brindado en esta etapa de mi vida.

Al GAD Provincial de Santo Domingo de los Tsáchilas, por su apoyo en la culminación del presente trabajo de titulación, especialmente al Ing. Geovanny Benítez, Prefecto de la provincia y al personal del Departamento de Desarrollo Productivo en especial al Dr. Fabián Intriago y al Ing. Alberto Viteri, por su infinito apoyo.

Además mi agradecimiento más sincero a mi familia, en especial a mis padres por brindarme su apoyo incondicional durante toda mi vida, de la misma manera a mis hermanos y cuñado, Mónica, Anthony, Isaac y Diego R., quienes han sido el motor principal para este logro, gracias por su infinito apoyo. Con el mismo ímpetu a Marcia F. quien siempre ha estado brindándome su apoyo y fuerza en esta etapa de mi vida en una manera incondicional para seguir adelante y conseguir lo tan anhelado.

A mis Amigos, Verónica V., Familia Morocho, Gracias por su infinito apoyo, por hacer que esta etapa de mi vida sea distinta, miles de momentos vividos.

## **DEDICATORIA**

Dedicado con mucho amor a mis Padres quienes supieron formarme, apoyarme y guiarme por el camino del bien, ya que gracias a sus sacrificios y esfuerzos han hecho posible la culminación de mis estudios.

También hago extensiva esta dedicación a mis hermanos, cuñado por el apoyo brindado a lo largo de mi vida y a mis dos hermosas angelitas, Paulette Valentina y Sarahí Abigail una gran Bendición en nuestras vidas. A Marcia F., por todos los momentos compartidos y brindarme ese apoyo indispensable en esta etapa de mi vida.

## CONTENIDO

	Pág
Resumen	v
Abstract	vi
Lista de Cuadros	vii
Lista de Gráficos	viii
Lista de Anexos	ix
I. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
II. <u>REVISIÓN DE LITERATURA</u>	4
A. BRUCELOSIS BOVINA	4
1. <u>Generalidades</u>	4
2. <u>Etiología</u>	5
3. <u>Epidemiología</u>	6
4. <u>Patogenia</u>	7
5. <u>Diagnóstico de la brucelosis bovina</u>	8
a. Diagnóstico por Serología	9
b. Prueba de aglutinación rápida en placa. “Rosa de Bengala” RB	9
c. Prueba confirmatoria ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay	10
6. <u>Supervivencia de Brucella en el ambiente</u>	10
7. <u>Factores de riesgo</u>	11
8. <u>Prevención y Control</u>	11
a. Prevención	11
b. Control	12
9. <u>Prevalencia epidemiológica en la región</u>	13
B. TUBERCULOSIS	14
1. <u>Generalidades</u>	14
2. <u>Etiología</u>	14
3. <u>Patogenia</u>	14
4. <u>Transmisión</u>	15
5. <u>Diagnóstico directo</u>	15
6. <u>Diagnóstico indirecto</u>	16
a. Prueba de hipersensibilidad retardada	16
b. Pruebas de laboratorio basadas en sangre	17

8.	<u>Situación de la tuberculosis bovina en Ecuador</u>	18
III.	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	19
A.	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	19
B.	UNIDADES EXPERIMENTALES	19
C.	MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES	19
1.	<u>Materiales</u>	19
a.	Materiales de campo	19
b.	Materiales de laboratorio	20
2.	<u>Equipos</u>	21
3.	<u>Instalaciones</u>	21
D.	TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL	21
E.	MEDICIONES EXPERIMENTALES	21
F.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	22
G.	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	22
H.	METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN	22
1.	<u>Prueba de la intradermorreacción</u>	23
2.	<u>Rosa de Bengala</u>	23
3.	<u>ELISA competitivo</u>	24
IV.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	25
A.	RESULTADOS DIAGNÓSTICOS PARA LA TUBERCULOSIS	25
B.	RESULTADOS DIAGNÓSTICAS PARA LA BRUCELOSIS	26
C.	RESULTADOS OBTENIDOS DE LA ENCUESTA REALIZADA	29
1.	<u>Animales analizados</u>	29
2.	<u>El propietario posee otros predios</u>	30
3.	<u>Tipo de producción</u>	32
4.	<u>Sistema de explotación</u>	33
5.	<u>Destino de leche</u>	33
6.	<u>Inventario de bovinos</u>	34
7.	<u>Poseen manga en buen estado</u>	35
8.	<u>Procedencia de los animales de reemplazo</u>	36
9.	<u>Arrienda sus potreros a otros ganaderos</u>	36
10.	<u>Utiliza el estiércol como abono</u>	37
11.	<u>Procedencia del agua de bebida de los animales</u>	38
12.	<u>Vacunas aplicadas a los animales</u>	39

13. <u>Sistema de reproducción empleado</u>	40
V. <u>CONCLUSIONES</u>	42
VI. <u>RECOMENDACIONES</u>	43
VII. <u>BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA</u>	44
ANEXOS	



## RESUMEN

Se realizó una evaluación de la situación actual de la brucelosis y tuberculosis bovina en ganaderías de las 8 parroquias rurales de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas. Para tuberculosis formaron parte del estudio 74 ganaderías con un total de 3725 animales, mientras que para brucelosis fueron 64 ganaderías con un total de 3556 animales; todos los animales muestreados fueron mayores a 6 meses de edad. Para el diagnóstico de *Mycobacterium bovis* se realizó la prueba de la intradermorreacción *in situ*, inoculando PPD bovina a nivel del pliegue ano-caudal en el lado izquierdo. Para la determinación de *Brucella abortus* se recolectaron muestras de sangre mediante punción venosa caudal; a nivel de laboratorio se separó el suero mediante centrifugación y se realizaron las pruebas Rosa de Bengala (RB) y Elisa competitivo (ELISAc). En cada explotación fue realizada una encuesta de acuerdo al Anexo 6 del Programa Nacional de Control de Brucelosis de Agrocalidad. Con respecto a *Mycobacterium bovis* un total de 15 animales resultaron dudosos, y los restantes fueron negativos; los animales dudosos fueron evaluados pasados 60 días mediante la prueba comparativa, resultando finalmente negativos. Para *Brucella abortus* se registró un total de 16 casos positivos con la prueba RB; los positivos a la prueba anterior fueron sometidos a ELISAc, a través de la cual un solo animal resultó positivo. Se concluye una seroprevalencia para *Brucella abortus* 1,56% a nivel de explotaciones y del 0,028% a nivel de sujetos. Con los resultados antes expuestos se recomienda realizar acciones preventivas y próximos estudios en toda la zona, con el fin de monitorear y lograr una eventual declaración de la provincia libre de las enfermedades objeto de estudio.

## ABSTRACT

An assessment of the current status of brucellosis and tuberculosis was done in cattle herds of 8 rural parishes in the province of Santo Domingo de los Tsáchilas. For tuberculosis 74 farms with a total of 3725 animals were evaluated, while for brucellosis were 64 farms with a total of 3556 animals; all animals sampled were older than 6 months old. Intradermal tuberculin test was performed to farm level; inoculating bovine PPD on the left side of anocaudal fold. For determination of *Brucella abortus* blood samples were collected by caudal venipuncture; serum was separated by centrifugation at laboratory level, and Rose Bengal (RB) and competitive Elisa (ELISAc) were performed. In each farm a survey was conducted according to Annex 6 of the National Program for Control of Brucellosis, Agrocalidad. Regarding *Mycobacterium bovis* diagnostic a total of 15 animals were doubtful, and the remaining was negative; doubtful animals were evaluated after 60 days by comparative test, ultimately resulting negative. For *Brucella abortus* a total of 16 positive through RB were recorded; positive samples to the previous test were subjected to cElisa, through which a single animal resulted positive. In conclusion seroprevalence for *Brucella abortus* was 1.56 % to farm level and 0,028% to animal level. It is recommended preventive actions and future surveys in the area, in order to monitor and to achieve eventual declaration of the free status disease in the province.

**LISTA DE CUADROS**

Nº	Pág.
1. ESPECIES ZONÓTICAS Y LOS PRINCIPALES ANIMALES IMPLICADOS.	5
2. SUPERVIVENCIA DE BRUCELLA EN EL MEDIO AMBIENTE.	11
3. RESULTADO GENERAL SOBRE LA DETERMINACIÓN DE TUBERCULOSIS.	25
4. RESULTADO GENERAL SOBRE LA DETERMINACIÓN DE BRUCELOSIS EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.	27
5. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA DETERMINACIÓN DE <i>Brucella abortus</i> EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.	27

**LISTA DE GRÁFICOS**

Nº		Pág.
1.	Animales y predios analizados para tuberculosis.	30
2.	Animales y predios analizados para brucelosis.	30
3.	Posesión de más de un predio por parte de los ganaderos encuestados.	31
4.	Tamaño de los predios.	32
5.	Tipo de producción.	33
6.	Sistema de explotación.	33
7.	Destino de la leche.	34
8.	Inventario de bovinos.	35
9.	Presencia de mangas de manejo en buen estado en las explotaciones.	35
10.	Procedencia de animales de reemplazo.	36
11.	Arrendamiento de potreros a otros ganaderos.	37
12.	Destino del estiércol en las explotaciones.	38
13.	Procedencia del agua de bebida en las explotaciones.	39
14.	Vacunas aplicadas en la explotación.	40
15.	Sistema de reproducción empleado.	40

## **LISTA DE ANEXOS**

Nº

1. Encuesta realizada para Brucelosis.
2. Encuesta realizada para Tuberculosis.
3. Encierre de los animales.
4. Preparación del material.
5. Medición del pliegue.
6. Identificación del animal.
7. Inoculación de la tuberculina.
8. Recolección de la muestra de sangre.

## **I. INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades infectocontagiosas como la brucelosis y tuberculosis afectan notablemente en los niveles productivos en ganadería. Además, causan enormes pérdidas en la economía mundial por sus graves repercusiones en el comercio internacional, no sólo por sus consecuencias sobre la sanidad animal, sino por sus repercusiones en salud pública. El ser humano está expuesto potencialmente al contagio debido al consumo de productos cárnicos y lácteos procedentes de animales enfermos.

Enfermedades infecciosas como la tuberculosis en bovinos, se presenta en gran parte de los países de América Latina y el Caribe; en todos los países se realizan programas de control y vigilancia, y algunos se haya en la etapa de erradicación (Cuba, Costa Rica, Panamá, Uruguay). Los programas de control y erradicación de enfermedades zoonóticas en el continente benefician las economías de los países productores y exportadores, así como también la salud de sus habitantes (De Kantor, C. *et al.*, 2008).

Algunas investigaciones serológicas puntuales realizadas en algunas universidades de Ecuador entre 1996 y 1997 en las provincias de Carchi, Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo, Esmeraldas y Loja como tesis de grado, las cuales no responden a programas articulados, presentan tasas elevadas de positivos a *Brucella* spp. Por otra parte, los registros epidemiológicos existentes en AGROCALIDAD demuestran que en el país no se ha empleado una campaña de vacunación contra brucelosis bovina en forma masiva y continua en las diferentes provincias, como por ejemplo sí se ha hecho en el control de la fiebre aftosa.

De acuerdo al “Programa Nacional de Control de Brucelosis Bovina” (AGROCALIDAD, 2009), se indica que la falta de un programa oficial, articulado a las políticas del Ministerio de Salud Pública, no ha permitido realizar una vigilancia activa, particularmente en personal de alto riesgo ocupacional. Sin embargo, encuestas serológicas realizadas en los operarios de faenamiento, en el Camal

Metropolitano de Quito han demostrado altos títulos de anticuerpos. Tampoco se mantiene vigilancia epidemiológica sobre productos de alto riesgo como la leche y derivados lácteos no pasteurizados, ni sobre su impacto sanitario a nivel de consumidores.

De acuerdo a datos recopilados por la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, la tasa promedio anual de casos por cada 100.000 habitantes para la brucelosis en Ecuador es de 5 casos en el período 1994-2014. En el caso de la tuberculosis, la tasa promedio anual es muy superior, siendo esta de 5648 casos en el periodo 1995-2014. En estos periodos indicados, en el caso de la brucelosis se registra en 2014 una tasa de 11 casos por cada 100.000 habitantes, no registrándose casos en los años 2008 al 2011; la mayor tasa observada fue para el año 1994; para la tuberculosis la menor tasa corresponde al 2014 (198 casos/100.000 habitantes), frente a la mayor tasa registrada en 1996 (7938 casos/100.000 habitantes) (Ministerio de Salud Pública, 2015).

La tuberculosis bovina además de ser una amenaza para la salud pública del país, esta enfermedad perjudica los niveles de producción de carne y leche de las ganaderías, pues cuando se detectan animales enfermos, se los debe descartar. Estos hechos dificultan la certificación sanitaria del hato ganadero, y trae como consecuencia trabas a la hora de querer exportar productos cárnicos y lácteos.

En el Ecuador, es posible que se subestime la existencia de regiones afectadas por estas enfermedades poco conocidas entre los ganaderos, dejando entrever un problema sin resolver, que hace sospechar la probable existencia de una situación de insalubridad animal y humana masiva, que dejaría sin reacción a todos los involucrados en la producción ganadera y autoridades. La identificación de zonas afectadas mediante estudios de situación epidemiológica, se vuelve imprescindible. Ello permite evaluar el impacto actual y futuro de las enfermedades y sirve como base para la toma de decisiones en beneficio de salud pública y sanidad animal.

En la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas predomina el sistema empresarial de producción lechera, que coexiste con actividades de engorde

temporal de los animales. Según datos oficiales del visualizador de estadísticas agropecuarias del Ecuador ESPAC, la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas en el 2011, contaba con una población de 168.987 animales bovinos. En contraste, según datos oficiales del último control de erradicación de la Fiebre aftosa (2014), en la provincia se cuenta con 239.812 animales bovinos, lo cual denota un incremento significativo que da importancia a la actividad bovina en la provincia. La producción provincial de leche asciende a 111.915 litros de leche, según datos oficiales del visualizador de estadísticas agropecuarias del Ecuador ESPAC, de las cuales aproximadamente un 18% se consumen directamente en las UPAs (INEC, 2014). Esta situación puede suponer un riesgo potencial de transmisión de las enfermedades indicadas, además de las otras vías de importancia como por ejemplo el contagio por placentas, abortos, etc. en brucelosis, y transmisión aerógena en tuberculosis.

Por todo lo anteriormente comentado, se plantea a nivel de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas un estudio epidemiológico sobre la situación actual de la brucelosis y tuberculosis bovina.

Para dar respuesta a dicho trabajo se plantea como objetivo general:

- Determinar la situación actual de la brucelosis y tuberculosis de la ganadería bovina de la provincia de Santo Domingo de Los Tsáchilas.

De este objetivo general, emanan los siguientes objetivos específicos:

- Identificar los predios que se encuentren libre de brucelosis y tuberculosis.
- Determinar la prevalencia de las enfermedades objeto de estudio en la población bovina.
- Identificar los factores determinantes en la epidemiología de las enfermedades objeto de estudio en la provincia.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### A. BRUCELOSIS BOVINA

#### 1. Generalidades

La brucelosis es una enfermedad producida por bacterias del género *Brucella*, caracterizada por producir un clínica de abortos, retención placentaria, y, en menor grado orquitis e infección de las glándulas sexuales accesorias en el macho (Kahn, C., 2007).

La brucelosis puede constituirse en una barrera para comercializar animales y sus productos (OIE, 2015), lo que pondría en peligro el desarrollo socio económico de los ganaderos, principalmente los pequeños, que no aplican sistemas de prevención y control de esta enfermedad.

Ante esta enfermedad, también se implica la Organización Mundial de la Salud (OMS), dado el carácter zoonótico de la misma, determinándose planes para erradicar la brucelosis en bovinos, ovinos, caprinos tanto en Europa como en América Latina (SESA, 2002).

De acuerdo a Castro *et al.* (2005), se citan como vías de transmisión de este agente etiológico en humanos la oral (leche cruda y derivados lácteos), por contacto (placentas, heces y secreciones vaginales), vía respiratoria (aerosoles en establos) y parenteral (material biológico contaminado).

Se ha citado que la vía de transmisión aérea es muy importante en el ámbito de los camales (Rodríguez, V. *et al.*, 2001).

En el ámbito ganadero, las especies más atacadas por esta enfermedad son los bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y animales domésticos, constituyéndose los productos alimenticios de origen animal en una de las principales fuentes de infección para el hombre (Álvarez, E. 2001).

En producción bovina se estima que la infección ocasiona pérdidas del 20 a 25% en la producción lechera por la interrupción del período de lactancia debido a aborto y concepciones demoradas (Acha, P. 2001).

## 2. Etiología

El género *Brucella* se caracteriza por bacterias gramnegativas, con morfología de cocobacilos (0,5-0,7  $\mu\text{m}$  de diámetro y 0,5- 1,5  $\mu\text{m}$  de largo), intracelulares facultativos, inmóviles, aerobios y no formadores de esporas. Estos microorganismos son muy resistentes a la desecación, lo que contribuye a que puedan permanecer viables durante largo tiempo en el ambiente o en los alimentos. Se pueden encontrar en leche, mantequilla y queso, y en este sentido la pasteurización se utiliza como medida preventiva ya que destruye estas bacterias (Suárez, F. 2001).

Actualmente se conocen siete especies: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. pinnipediae* *B. cetaceae* (Suárez, F. 2001). De acuerdo a Kahn C., (2007), se cita los principales animales implicados, (cuadro 1).

Cuadro 1. ESPECIES ZOONÓTICAS Y LOS PRINCIPALES ANIMALES IMPLICADOS.

AGENTE CAUSAL	ESPECIE AFECTADA
<i>Brucella abortus</i>	G. bovino, bisontes, alces, caribú.
<i>Brucella melitensis</i>	Cabra, oveja, camellos.
<i>Brucella suis</i>	Cerdos jabalíes.
<i>Brucella canis</i>	Perros, coyotes.

Fuente: Kahn, C. (2007).

El presente estudio se centra en el estudio de la brucelosis bovina, producida por *B. abortus*.

### 3. Epidemiología

La brucelosis bovina se describe en prácticamente todos aquellos países donde se explota ganado bovino, pero algunos países del norte y del centro de Europa, Canadá, Japón, Australia y Nueva Zelanda se consideran libres Díaz, E. (2013).

La tendencia general favorable en la mayoría de regiones españolas puede no reflejar la existencia de áreas locales endémicas en las que la brucelosis continua siendo un problema no resuelto, ya que las zonas de baja incidencia pueden enmascarar las cifras de áreas rurales escasamente pobladas. La identificación de dichas zonas y el estudio de su situación epidemiológica han de contribuir a delimitar el impacto actual de la enfermedad y a la toma de decisiones de salud pública Alvarez, J. y García P. (2000).

La transmisión de la enfermedad entre animales se produce por las siguientes vías (AGROCALIDAD, 2009):

- Ingestión de pastos, alimentos y agua contaminados con excreciones.
- Contacto con membranas fetales de vacas infectadas, secreciones vaginales, fetos abortados, terneros y toros infectados.
- Vía ocular e incluso a través de la piel indemne de animales en hacinamiento.
- Por inseminación artificial realizada sin considerar medidas higiénicas.
- Contaminación por la ubre durante el ordeño.
- Ingestión de leche y calostro de vacas enfermas.

Los machos infectados secretan semen que contiene la bacteria y de esta forma pueden transmitir la infección, pero la mayor probabilidad de propagación se produce cuando se emplea semen de estos animales en la inseminación artificial. El trasplante de embriones no tratados en forma adecuada, también puede constituir una fuente de infección (AGROCALIDAD, 2009).

El contacto con materiales infectados (abortos, placentas, sangre, estiércol, extracción de semen, etc.), es probablemente el mecanismo principal. La ingestión de leche o productos lácteos no pasteurizados de procedencia casera

supone todavía un mecanismo importante de contagio en algunas zonas de nuestro país (Macías, G. 2003).

#### 4. Patogenia

Esta enfermedad causada por *Brucella abortus* es adquirida principalmente por vía oral a partir de material infectante proveniente de descargas vaginales de vacas infectadas, fetos abortados o placentas contaminadas. En el animal susceptible tiende a localizarse en el aparato reproductor y ubre de la vaca ocasionando abortos, nacimiento de terneros débiles, retención de placenta y metritis con diferentes grados de infertilidad. La eliminación de *B. abortus* por leche es también una de las formas de difusión de la enfermedad, especialmente al hombre ocasionándole fiebre, decaimiento, dolores musculares y articulares siendo su presentación recurrente Campero, C. (2000).

La *brucella* entra en el organismo generalmente por vía oral, y al situarse en la mucosa son fagocitadas por fagocitos especializados que se encuentran debajo de la submucosa. Después de su internalización, *Brucella* se encuentra dentro de una vacuola que va madurando, pasando de ser un endosoma temprano a un endosoma tardío, y si no es destruida se multiplica en el retículo endoplásmico de los macrófagos. Pero no todas las *brucellas* sobreviven; cuando no son lo suficientemente numerosas y el animal tiene un sistema inmunitario competente, estas bacterias son dirigidas hacia los lisosomas, donde son destruidas Díaz, E. (2013).

Los agentes infecciosos pueden afectar al embrión o feto en cualquier etapa de su desarrollo ocasionando la muerte (con o sin expulsión), malformaciones congénitas, nacidos muertos, nacimiento de crías débiles o nacimiento de crías persistentemente infectadas Rivera, H. (2001).

La enfermedad en el toro también es adquirida principalmente por vía oral con tendencia a localizarse en el área genital (testículos y glándulas sexuales accesorias). Las posibilidades de transmisión durante el servicio natural son escasas. Sin embargo, el empleo de la IA con semen infectado con *B. abortus* es

altamente contagiosa. El toro infectado debe ser eliminado del rodeo por verse disminuida su fertilidad y ser un factor de difusión de la enfermedad mediante sus excretas. No existe profilaxis vacunal para el toro por lo que el mejor seguro es el control serológico y clínico pre servicio y la adquisición de toros de rodeos libres de infección Campero, C. (2000).

## **5. Diagnóstico de la brucelosis bovina**

El diagnóstico clínico de la brucelosis bovina, no es de utilidad, por ser una enfermedad que va a cursar sin ningún signo clínico que se pueda considerar patognomónico de la enfermedad, el único signo va a ser el aborto y según el análisis de laboratorio y los resultados de diversos proyectos de investigación llevados a cabo se sabe que existen muchas otras patologías de mayor prevalencia que pueden presentar el mismo signo clínico, como es el caso de la leptospirosis y la neosporosis. Aunque la presencia de abortos siempre es una alerta a tener en cuenta (Acha, P. y Pzifres, B. 2003).

Extracción de sangre: En los grandes animales, la sangre se obtiene de la vena yugular o bien de la vena caudal; en los pequeños animales a partir de la vena cefálica antibraquial o de la safena. Si la extracción se hace con jeringa debe hacerse en forma lenta para no generar turbulencia y evitar la hemólisis. Los tubos para colectar la muestra deben estar secos, limpios y perfectamente rotulados (Arestegui, M. y Gualtieri, C. 2005).

Obtención del suero: Se deja coagular la sangre en el tubo a temperatura ambiente (20-22°C), durante 12-24 h o se coloca en estufa a 37°C durante 3 - 4 h. El suero obtenido a partir de la retracción del coágulo es separado con la ayuda de pipeta. Si hay glóbulos rojos en suspensión deberá centrifugarse a 1500-3000 rpm durante 5 minutos (Arestegui, M. y Gualtieri, C. 2005).

Conservación del suero: Si el suero se va utilizar en inmediatamente se refrigera, de lo contrario se congela a -20°C. No debe congelarse y descongelarse repetidas veces. La característica deseable es que sea translúcido e inodoro. No deben

utilizarse en pruebas serológicas sueros hemolisados o contaminados (Arestegui, M. y Gualtieri, C. 2005).

#### **a. Diagnóstico por Serología**

La serología es la ciencia que estudia la detección de anticuerpos en los distintos líquidos corporales: suero, plasma, lágrimas, secreciones bronquiales, líquido sinovial, leche, calostro, plasma seminal, moco vaginal, etc. (Arestegui, M. y Gualtieri, C. 2005).

Existen numerosas pruebas para el diagnóstico serológico de brucelosis: aglutinación en placa, en tubos, antígeno bufferado en placa (BPA), rosa de bengala, fijación del complemento, 2 mercaptoetanol, rivanol, ELISA indirecto y de competición, prueba de anillo en leche, de hipersensibilidad, test de polarización (Mancera, A. 2001).

#### **b. Prueba de aglutinación rápida en placa. “Rosa de Bengala” RB**

Esta prueba es utilizada para el diagnóstico de la brucelosis bovina como una prueba de tamizaje por lo que es recomendada en áreas de baja prevalencia con o sin vacunación (Aricapa, H. *et al.* 2008).

La rosa de bengala, consiste en una prueba de aglutinación rápida en placa, en el que se enfrenta el suero sin diluir junto con una suspensión de *Brucella abortus* cepa 1119-3, concentración de 8% amortiguada a un pH  $3,5 \pm 0,05$  y teñida con rosa de bengala (Mancera, A. 2001). Por su bajo pH, privilegian la aglutinación de las inmunoglobulinas tipo IgG reduciendo las reacciones inespecíficas (Franco, M. *et al.* 2007.), pero la aglutinación IgM también tienen alguna actividad de aglutinación (Saegerman, A. *et al.* 2011).

Su sensibilidad (96,2%) y especificidad (97,1 %), son muy elevadas (Aricapa, H. *et al.* 2008), de tal forma que sólo excepcionalmente resulta negativa en la fase

aguda de la infección y raramente en las fases evolucionadas o crónicas de la enfermedad (Franco, M. *et al.* 2007).

### **c. Prueba confirmatoria ELISA: Enzyme Linked Inmunosorbent Assay**

La prueba de ELISA competitiva es una técnica altamente sensitiva, específica, versátil y es ampliamente utilizado en medicina veterinaria para el diagnóstico de numerosas enfermedades. Las muestras de suero o plasma son mezcladas con anticuerpo monoclonal biotinilado e incubadas en placas de c-Elisa de 96 pozos, a las cuales se les ha pegado LPS purificado de *B. abortus*. La cantidad de anticuerpo monoclonal, inmunológicamente unido al LPS es medido por la reacción resultante entre el conjugado estreptavidina-peroxidasa, seguido de la adición del cromógeno-sustrato. El color producido es proporcional a la cantidad de anticuerpo monoclonal unido al polisacárido e inversamente proporcional al grado de competición entre el anticuerpo monoclonal y el anticuerpo de la muestra. Los anticuerpos producidos por la vacunación con cepa 19 u otros factores no específicos compiten pobremente con el anticuerpo monoclonal, mientras que los anticuerpos producidos con cepa de *B. abortus* de campo compiten fuertemente con el monoclonal. Así cuando se analizan muestras de animales infectados con *B. abortus* da como resultado que el anticuerpo monoclonal se quede unido en bajas cantidades al LPS y por tanto se genera poco color en la reacción (AGROCALIDAD, 2009).

## **6. Supervivencia de Brucella en el ambiente**

La *Brucella* puede también sobrevivir hasta 60 días en suelos húmedos y hasta 144 días a 20°C y 40% de humedad relativa. También puede sobrevivir 30 días en la orina, 75 días en fetos abortados y más de 200 días en exudados uterinos. En paja de piso de corrales contaminada con materia fecal de animales infectados y excretando *Brucella*, la bacteria se destruye a 56 – 61 °C dentro de las 4,5 horas sin embargo, existen publicaciones conflictivas donde se informa la supervivencia de *Brucella* en abonos líquidos de estiércol (Young, E. 1994).

Respecto a la supervivencia en el medio ambiente en el cuadro 2 pueden apreciarse algunas mediciones realizadas al respecto:

Cuadro 2. SUPERVIVENCIA DE BRUCELLA EN EL MEDIO AMBIENTE.

CONDICIÓN	TIEMPO
Sol directo	4.5 horas
Suelo seco	4 días
Suelo húmedo	66 días
Suelo húmedo y con frío	180 días
Materia fecal húmeda	240 días
Agua contaminada	150 días
Feto a la sombra	180 días

Fuente: Robles, C. (2002).

## 7. Factores de riesgo

La prevalencia de esta enfermedad se ve influenciada por las condiciones socio-económicas de cada país, región o localidad. En países en vías de desarrollo, en los cuales se utiliza un sistema tradicional de manejo de los animales y los sistemas sanitarios son deficientes o inexistentes, esta enfermedad afecta a la población en general, en tanto que en países desarrollados, esta enfermedad tiene un carácter profesional (López, H. y Merino, F. 2002).

## 8. Prevención y Control

### a. **Prevención**

Las medidas básicas de prevención que deben implementarse según (Blasco, J. 2001) son:

- Observación de las hembras preñadas, sólo el 20% de los abortos en ganado bovino, son producidos por brucelosis. El aborto, se produce en los primeros



momentos de la infección. En el caso de que el ganado ofrezca síntomas prodrómicos de aborto o parto, se le debe separar del resto de los animales.

- El material abortivo se destruirá con cal viva y los instrumentos y superficies se desinfectarán.
- Cuarentena de animales se hará cuando entren animales nuevos procedentes de otras explotaciones o de mercados. Lo ideal es completar las granjas con animales descendientes de las mismas o bien con los adquiridos de granjas libres de infección.
- Sistema rotacional de pastos, se ha comprobado que el incremento en la concentración de ganado en un territorio determinado aumenta la posibilidad de contagio. Se deben separar los animales de distinta edad y condición.
- Sacrificio de animales enfermos y entierro de abortos, nunca se deben echar restos de abortos y animales muertos a los perros para su alimentación, ni tampoco se deben abandonar en el campo o enterrarlos sin previo tratamiento. Los restos se deben tratar primero con cal viva o incinerarlos y a continuación depositarlos en una fosa común cubriéndolos con tierra.
- Supresión de las cubriciones temporalmente en presencia de infección, las hembras abortadas se dejan sin cubrir seis meses y se cubren posteriormente mediante inseminación artificial, ya que el semental puede ser portador contaminante a través del coito.
- Utilización de ropa protectora: botas, mandiles; guantes, mascarilla, gafas protectoras.
- No consumir leche ni productos lácteos sin pasteurizar, sino se cumplen las garantías sanitarias legalmente vigentes.
- Desinfección de todas las personas a la entrada y salida de la explotación, se debe a que el hombre actúa como transmisor de la enfermedad al visitar distintas ganaderías, por lo que se deben cumplir adecuadas medidas higiénico-sanitarias.

#### **b. Control**

- Incrementar la inmunidad de la población, lo cual se logra con el uso de vacunas.

- Establecer un sistema de detección de animales infectados y el descarte de los mismos.
- Implementar medidas de manejo y de higiene a fin de disminuir la cantidad de bacterias presentes en el ambiente.
- Mantener en forma estable la producción y la economía del establecimiento (Miño, B. y Pico, V. 2003).

## 9. **Prevalencia epidemiológica en la región**

En base a estudios realizados, se determinó que la región 2 del Ecuador, conformada por las provincias de Esmeraldas, Manabí, Santa Elena, Guayas, Los Ríos, El Oro y Santo Domingo de los Tsáchilas, se considera como una zona de alta prevalencia, con valores entre 4,20% y 10,62%. La falta de medidas preventivas como el uso de vacuna antibrucélica, la dificultad de detección oportuna de animales sospechosos y el tratamiento adecuado del material contaminado, se citan como factores que contribuyen a estos datos, a pesar de la baja densidad y baja tasa de contacto animal que se presenta en la zona (AGROCALIDAD, 2009).

Un estudio cercano, se muestreo un total de 400 muestras de sangre, las cuales fueron recolectadas en 43 hatos en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas con una alta tasa de prevalencia histórica de brucelosis. Un promedio del 29% dio positivo para el análisis de RB, mientras tanto que con PCR fue del 25% en cuanto a la prevalencia de brucelosis bovina de acuerdo a la procedencia. La prevalencia de brucelosis bovina según su procedencia es la siguiente; la parroquias de Valle Hermoso y Alluriquin con 1% casos positivos en cada zona; El Esfuerzo, y Santa María del Toachi con 1,5% caso en cada sector, Luz América con 2% caso; La Concordia con 3% casos positivos, Puerto Limón 9% casos positivos y San Jacinto del Búa 10% casos. Vera, N. (2013).

## **B. TUBERCULOSIS**

### **1. Generalidades**

La tuberculosis es una de las enfermedades infecciosas que afecta al ser humano de mayor mortalidad a nivel mundial (Langeneger, C. y Oliveira, J. 1981). En América Latina se estima una tasa de incidencia de tuberculosis de 34 casos cada 100.000 habitantes (OPS, 2015). La facilidad y frecuencia con que la tuberculosis de los animales se extiende a las personas en un medio no controlado convierten a esta enfermedad en una zoonosis importante (Radostits, O. *et al.*, 2002).

### **2. Etiología**

La tuberculosis bovina (TBB), es una enfermedad crónica de los animales, provocada por una bacteria llamada *Mycobacterium bovis*, que guarda estrecha relación con las bacterias causantes de las tuberculosis humana y aviar. Puede afectar a prácticamente todos los mamíferos, en los que provoca un deterioro del estado general de salud, muy a menudo tos y, a la larga, la muerte (OIE, 2008).

La TBB es una enfermedad causada por la bacteria *Mycobacterium bovis* que no sólo se transmite al hombre, sino también a animales domésticos y silvestres. En el ganado adulto, la tuberculosis se presenta como una enfermedad respiratoria, provocando lesiones pulmonares e inflamación de los nódulos linfáticos, especialmente en el tracto respiratorio (AGROCALIDAD, 2009).

### **3. Patogenia**

*Mycobacterium bovis* genera una pequeña lesión granulomatosa en el sitio de ingreso, conocida como complejo primario de la infección, motivo por el cual el individuo genera una respuesta inmune protectora que elimina o encapsula al patógeno. La vulnerabilidad de la bacteria va a depender de una serie de combinaciones microbiana, ambiental y del propio hospedero. Cual sea la acción del organismo o la acción benéfica de los factores, dicha enfermedad logra vencer los mecanismos inmunológicos del hospedero, y ésta es la razón por la cual el

organismo es incapaz de contenerse ante la micobacteria que ahora puede multiplicarse, generalizarse al resto del organismo, producir la enfermedad y diseminarse al medio ambiente para continuar su ciclo en otros individuos susceptibles (Abalos, P. y Retamal, P. 2004).

#### **4. Transmisión**

El riesgo de transmitir la TBB de los bovinos al ser humano se ha reconocido desde hace mucho tiempo y, en consecuencia, se ha instituido la práctica sistemática de pasteurizar la leche para eliminar el agente etiológico. El nexo entre las actividades relacionadas con la manipulación del ganado y la infección está bien documentado. En México, el riesgo se explica por la elevada prevalencia de la enfermedad en el ganado lechero, la falta de participación de los establos lecheros en campañas de erradicación y el hecho de que el 30-40% de la leche que se produce se vende en la forma de leche cruda (Pérez, L. *et al*, 2008).

Como formas de transmisión se cita la ingestión de leche no pasteurizada o derivados crudos, y la inhalación por vía aerógena (contacto con animales enfermos o aerosoles producidos en el faenamiento). Las barreras de protección para el hombre aun cuando la infección sea común en bovinos, son: las medidas higiénico-sanitarias (limpieza, desinfección, etc), la pasteurización o hervido de la leche (65°C durante 30 minutos) y el control sanitario por parte de la inspección veterinaria en los frigoríficos y mataderos. Sin embargo, esa barrera no alcanza a proteger a los grupos de riesgos, constituidos por quienes por razones de trabajo, o de hábitos y residencia, están en contacto con el ganado. Se estima que en Latinoamérica cada año ocurren 7000 nuevos casos de TBC humana por *M. bovis* (Torres, P., 2006).

#### **5. Diagnóstico directo**

Los exámenes bacteriológicos podrían consistir en la observación de bacilos ácido resistentes mediante examen microscópico, lo cual proporciona una confirmación provisional. El aislamiento de micobacterias en medios de cultivo

selectivos y su posterior identificación mediante cultivo y pruebas bioquímicas o técnicas de ADN, como la PCR, confirma la infección (OIE, 2009).

En el método conocido como spoligotyping se amplifica por PCR, una región repetitiva presente únicamente en miembros del complejo *M. tuberculosis*, y se ha empleado en la tipificación de aislados (Otero, F, 2003).

La inoculación de animales, que se ha utilizado en el pasado para confirmar la infección por *M. bovis*, actualmente casi no se utiliza por consideraciones relativas al bienestar animal (OIE, 2009).

## **6. Diagnóstico indirecto**

### **a. Prueba de hipersensibilidad retardada**

La prueba cutánea de la tuberculina o método de Mantoux (TST, por sus siglas en inglés), es un método estándar para determinar si una persona está infectada por el microbio *Mycobacterium tuberculosis*. La administración y lectura confiable de esta prueba requiere de procedimientos, capacitación, supervisión y prácticas estandarizadas (CDC, 2012).

Esta prueba constituye el método de referencia para la detección de la tuberculosis bovina. Consiste en medir el espesor de la piel, inyectando tuberculina bovina por vía intradérmica en la zona medida y midiendo toda posible hinchazón posterior en el punto de inyección 72 horas después. La prueba comparativa de la tuberculina intradérmica con tuberculina bovina y aviar se utiliza principalmente para diferenciar entre animales infectados con *M. bovis* y animales sensibilizados a la tuberculina debido a una exposición a otras micobacterias o géneros relacionados. La decisión relativa a si utilizar la prueba simple o la comparativa en general se basa en la prevalencia de la infección por tuberculosis y en el nivel de exposición ambiental a otros microorganismos que causen sensibilización. Debido a que su especificidad es mayor y a que son más fáciles de estandarizar, los productos derivados de proteína purificada (PPD), han sustituido las tuberculinas de medios sintéticos concentradas por calor. La dosis

recomendada de PPD bovino en ganado bovino es de al menos 2.000 Unidades Internacionales (UI) y en la prueba comparativa de la tuberculina, las dosis no deben ser inferiores a las 2.000 UI cada vez. Las reacciones se interpretan en base al método analítico utilizado (OIE, 2009).

#### **b. Pruebas de laboratorio basadas en sangre**

Actualmente se dispone de análisis de sangre diagnósticos, como la prueba del interferón gamma, en la que se utiliza un enzimoimmunoanálisis (ELISA), como método de detección para el interferón, la prueba de la proliferación de linfocitos, mediante la cual se detectan respuestas inmunitarias celulares, y el ELISA indirecto, que detecta respuestas de anticuerpos. La logística y la ejecución en el laboratorio de algunas de estas pruebas pueden constituir un factor limitante. La utilización de pruebas basadas en sangre puede ser ventajosa, sobre todo con ganado bovino intratable, animales de zoo y fauna salvaje, aunque la interpretación de la prueba podría resultar obstaculizada por la falta de datos relativos a ciertas especies. En una reciente revisión realizada por Cousins & Florisson se ofrece información sobre el uso de distintas pruebas diagnósticas en especies animales distintas de las bovinas (OIE, 2009).

### **7. Control de la Tuberculosis Bovina**

De acuerdo a las indicaciones de la OIE (2008), se debe detectar a los bovinos infectados con la prueba de la tuberculinización ano-caudal simple, siendo una prueba válida para el comercio internacional. En el caso de existir reacciones positivas, se debe eliminar al animal; en animales sospechosos y negativos, se debe repetir la tuberculinización después de 60 días. Los animales positivos se los eliminan y a los negativos se les realiza dos pruebas consecutivas con 60 días de intervalo y se lo considerara rodeo libre. Para obtener el certificado oficial y ser declarado rodeo oficialmente libre de tuberculosis bovina, deberá realizar dos tuberculizaciones más con intervalo de 60 días.

## **8. Situación de la tuberculosis bovina en Ecuador**

La situación en Ecuador no está documentada ni cuantificada claramente, debido a varios factores tales como la falta de registros de casos positivos, limitado uso de técnicas diagnósticas y una insuficiente inspección veterinaria en los camales. Los únicos reportes sobre la enfermedad se basan en investigaciones aisladas. En un estudio realizado en los cantones Otavalo, Espejo, El Ángel y Cayambe se reveló una prevalencia de 3,91% (Andino, M. y Ashqui, J. 2001). En el cantón Mejía, se reportó una prevalencia de 7,95% en fincas grandes (más de 70 bovinos), 3,40% en fincas medianas (25 a 70 bovinos) y en fincas pequeñas (menos de 25 bovinos), solamente un 0,3%; estudios más recientes en la misma zona, evidenciaron una prevalencia real de 7,13% en fincas grandes y una tasa de incidencia anual de 1,7% (Proaño, F. *et al.*, 2009).

Según estudios realizados en las provincias de Cotopaxi, Carchi e Imbabura, en base a la prueba de tuberculización ano-caudal, se determinó un 8,47% en Cotopaxi, 3,57% en Carchi y 4,55% en Imbabura. Se identificaron como factores de riesgo al tamaño de fincas, altitud, tipo de producción, introducción de otros animales rumiantes y no rumiantes, densidad poblacional, edad, sexo y si los animales fueron previamente tuberculizados. Basantes, I. y Maldonado, J. (2013).

En sectores de la provincia de Manabí, que junto a Santo Domingo de los Tsáchilas forman parte de la región 2, se realizaron trabajos de investigación universitaria, para determinar la presencia de tuberculosis bovina. En la zona del cantón el Carmen, empleando la prueba tuberculina en el pliegue ano-caudal, durante el desarrollo del estudio se inocularon 160 bovinos correspondientes a las zonas norte, sur, este y oeste. Los resultados de prevalencia mostraron un valor del 12,86% (Zambrano, M, 2013).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **A. LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL EXPERIMENTO**

El presente trabajo se realizó en explotaciones bovinas ubicadas en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, distribuidas en las distintas parroquias rurales de la misma, entre febrero de 2015 a enero de 2016, con la colaboración logística y presupuestaria del GAD Provincial de Santo Domingo de los Tsáchilas.

#### **B. UNIDADES EXPERIMENTALES**

El estudio sobre tuberculosis se llevó a cabo una muestra de 3725 bovinos pertenecientes a 73 explotaciones ganaderas, y en el caso del estudio sobre brucelosis el tamaño muestral fue de 3556 bovinos, pertenecientes a 64 explotaciones. La diferencia los tamaños muestrales en el estudio entre las dos enfermedades se debió a consideraciones de tipo presupuestario y a la existencia de resultados anteriores al presente estudio, en referencia a brucelosis.

#### **C. MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES**

Los materiales, equipos e instalaciones que fueron utilizados en el desarrollo del presente trabajo se exponen a continuación:

##### **1. Materiales**

###### **a. Materiales de campo**

- Campana de extracción de sangre.
- Tubos de extracción de sangre al vacío (sin anticoagulante).
- Agujas para campana de extracción de sangre.
- Sogas.
- Libreta de apuntes.



- Cámara fotográfica.
- Cooler.
- Gel refrigerante.
- Alcohol.
- Algodón.
- Guantes de látex.
- Ligas.
- Marcador permanente.
- Fundas plásticas.
- Tuberculina.
- Jeringuilla de insulina.
- Agujas desechables.
- Calibrador.
- GPS.
- Hojas de recolección de muestras.
- Gradillas.
- Overol.
- Botas de trabajo.

**b. Materiales de laboratorio**

- Antígeno de *Brucella*.
- Pipetas graduadas.
- Mezcladores.
- Temporizador.
- Mandil.
- Microtubos de 1,5ml.
- Termómetro.
- Puntas amarillas.
- Gradillas.
- Hoja de identificación de muestras (laboratorio).

## **2. Equipos**

- Congelador.
- Centrífuga.
- Refrigeradora.
- Placa alveolada.
- Agitador de placa alveolada (Rosa de Bengala).
- Cámara para lectura del test Rosa de Bengala.
- Analizador de ELISA.
- Incubadora para placas.

## **3. Instalaciones**

- Manga de manejo.
- Corral.
- Laboratorio ANIMALAB.

## **D. TRATAMIENTOS Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

El presente trabajo no presentó tratamientos que separasen por grupos los individuos objeto de estudio; se trata de un trabajo observacional de carácter descriptivo, denominado en el ámbito de la epidemiología como estudio transversal.

## **E. MEDICIONES EXPERIMENTALES**

Se llevaron a cabo las siguientes mediciones experimentales:

- Porcentaje de reactores positivos, dudosos y negativos a la prueba de la intradermorreacción.
- Porcentaje de reactores positivos a la prueba Rosa de Bengala.

- Porcentaje de reactores positivos a la prueba Rosa de Bengala, que a su vez fueron positivos al ELISA competitivo.

## **F. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA**

Con los datos obtenidos a nivel de campo, laboratorio, y a través de la encuesta realizada, se llevó a cabo una estadística descriptiva.

## **G. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

En la presente investigación se realizó un estudio en explotaciones bovinas de la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, en el cual fueron muestreados 3725 bovinos (73 explotaciones), para la determinación de tuberculosis, y 3556 (64 explotaciones), para brucelosis. Fueron muestreado únicamente animales con edad superior a 6 meses.

Las ganaderías que formaron parte del estudio, siguieron los requisitos planteados por AGROCALIDAD, y que fueron facilitar el ingreso y el manejo al técnico enviado, identificación individual permanente de los animales (tatuaje, arete, marca, chip, etc.), poseer cercas en buen estado, entre otros.

Para el diagnóstico de tuberculosis se empleó en cada individuo la prueba de la intradermorreacción *in situ*, a nivel del pliegue ano caudal, y para el diagnóstico de la brucelosis se colectaron muestras de sangre por punción venosa caudal, las cuales fueron enviadas al laboratorio para su análisis mediante Rosa de Bengala y ELISA competitivo. En cada una de las explotaciones muestreadas se llevó a cabo una encuesta epidemiológica, basada en la información del Anexo 6 del Programa Nacional de Control de Brucelosis de Agrocalidad (Agrocalidad, 2009).

## **H. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN**

Se procedió a la contención de los animales objeto de estudio (manga de manejo o sujeción manual), y se procedió a registrar la identificación individual (número, nombre, característica, chip, tatuaje, etc.).

En primer lugar se realizó la prueba diagnóstica para detectar *Mycobacterium bovis*:

#### **1. Prueba de la intradermorreacción:**

Se midió con un calibrador el grosor del pliegue ano-caudal del lado izquierdo, se registró el valor, y se procedió a desinfectar la zona indicada con una solución yodada o alcohólica, en función de disponibilidad. A continuación se inoculó en el pliegue ano-caudal y de forma intradérmica 0,1cc de PPD bovina cepa AN5 (Observe™ Bovine Tuberculin, Prionics Lelystad B.V., Países Bajos), usando una aguja de 27G x 1/2" (0,4 mmx13 mm). A las 72 horas de la inoculación se procedió a la lectura de la reacción, registrando nuevamente la medida del grosor del pliegue cutáneo con un calibrador, interpretándose los resultados con respecto a la primera medición, de la siguiente forma:  $\geq 4\text{mm}$  "positivos", 4-2 mm "dudosos" y  $\leq 2\text{mm}$  "negativos".

A continuación, y una vez realizada la inoculación en la prueba indicada anteriormente, en el mismo día se procedió a tomar una muestra de sangre de cada uno de los animales de una cantidad entre 5 y 10 ml. La recolección sanguínea se llevó a cabo por punción venosa caudal a través de tubos al vacío marca VACUTECH (10 ml) y agujas 21gx1". Una vez extraída se conserva la muestra de 1 a 2 minutos protegida de la luz solar y a temperatura ambiente, para evitar la hemolización. A continuación se mantuvieron las muestras en refrigeración a 4°C, para su envío al laboratorio ANIMALAB, ubicado en Machachi, Provincia de Pichincha. A nivel laboratorial se realizó la extracción del suero mediante centrifugación a 3000 rpm y 10 minutos. A continuación se detallan las pruebas llevadas a cabo a nivel laboratorial, en referencia al diagnóstico de *Brucella bovis*.

#### **2. Rosa de Bengala:**

Se colocaron las muestras de suero y de antígeno (Rose Bengal Brucellosis Antigen. IDEXX Montpellier S. FRANCE) a temperatura ambiente ( $22 \pm 4$  °C); solo

se sacó del refrigerador el antígeno suficiente para las pruebas del día. A continuación se depositó con un micropipeta un volumen de 25-30  $\mu$ l de suero de cada animal en una placa de vidrio alveolada para hemaglutinación. El frasco del antígeno se agitó suavemente, y se colocó el mismo volumen de antígeno encima de la gota de suero, y se mezcló cuidadosamente el suero y el antígeno usando un palillo para cada muestra, hasta producir una zona circular u oval de aproximadamente 2 cm de diámetro. Posteriormente, la placa se sometió a una agitación suave durante 4 minutos a temperatura ambiente en un agitador circular; una vez concluida se realizó la lectura de la aglutinación sobre una caja oscura con un foco de luz blanca. Se considera positiva cualquier reacción visible en la que aparecen grumos de aglutinación. En la misma placa, se debe realizar comprobación con un suero control, para verificar la sensibilidad de las condiciones de la prueba.

Una vez determinado animales positivos en el análisis a Rosa de Bengala, procedemos a realizar sobre dichos animales la prueba confirmatoria del ELISA competitiva (ELISAc).

### **3. ELISA competitivo:**

Se usó el kit SVANOVIR®*Brucella*-Ab C-ELISA (Boehringer Ingelheim Svanova, Uppsala, Suecia), y se siguieron las instrucciones del fabricante.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

##### A. RESULTADOS DIAGNÓSTICOS PARA LA TUBERCULOSIS

Los resultados de tuberculosis obtenidos en la presente investigación se muestran en el cuadro 3. En dicho cuadro se pueden observar el número de parroquias muestreadas de la provincia de estudio, el número de explotaciones, así como el número de animales muestreados y reactores positivos y negativos.

Cuadro 3. RESULTADO GENERAL SOBRE LA DETERMINACIÓN DE TUBERCULOSIS

Parroquias	Número de Explotaciones	Número de animales	Reacción a la intradermorreacción		
			Positivo	Dudoso	Negativo
El Esfuerzo	26	1259	0	0	1259
Valle Hermoso	4	115	0	0	115
Alluriquin	14	274	0	15	259
Puerto Limón	3	327	0	0	327
Santa María del Toachi	16	784	0	0	784
San Jacinto del Búa	1	29	0	0	29
Santo Domingo	9	937	0	0	937
TOTAL	73	3725	0	15	3710

Del total de animales muestreados (3725 animales), no se obtuvo reactores positivos a la prueba de intradermorreacción; sin embargo, se encontraron 15 resultados dudosos, todos pertenecientes a la parroquia Alluriquín.

Estos animales dudosos se descartaron como positivos inoculando tuberculina bovina y tuberculina aviar en la tabla del cuello, 60 días posteriores a la primera inoculación.

De acuerdo a la OIE (2008), los animales que dan resultados inconcluyentes en la prueba intradérmica simple deben someterse a otra prueba tras un intervalo de 42 días para que la desensibilización pueda disminuir (en algunas zonas, se utilizan 60 días para el ganado bovino y 120 días para los ciervos). La reacción se considera inconcluyente si no se observa ninguno síntoma de la enfermedad y si el aumento del grosor del pliegue cutáneo es superior a los 2 mm e inferior a los 4 mm. La reacción es positiva si se observan los síntomas clínicos o si hay un aumento de 4 mm o más en el grosor de la piel. Es necesario tener en cuenta que los falsos positivos pueden deberse a sensibilización por otras micobacterias y por inflamación local.

En contraste, según investigaciones realizadas en el 2013 cercanas a la provincia, concretamente en el cantón El Carmen (prov. De Manabí), de 160 bovinos muestreados a los cuales se les practicó la misma prueba diagnóstica, resultaron 5 animales positivos, 6 sospechosos y 149 negativos, evidenciando una prevalencia del 6,88% (Zambrano, M. 2013).

Por otro lado, en un estudio realizado por Basantes, I. y Maldonado, J. (2013), se muestra una prevalencia del 4,07% en Cotopaxi (25 positivos/613 animales totales), 0,38% en Carchi (1 positivo/266 animales totales) y 2,03% Imbabura (9 positivos/444 animales totales). En contraste a estos reportes, los resultados obtenidos en el presente estudio se encuentran por debajo de estos rangos.

## **B. RESULTADOS DIAGNÓSTICAS PARA LA BRUCELOSIS**

Los resultados de brucelosis obtenidos en la presente investigación se muestran en el cuadro 4.

En dicho cuadro y del mismo modo que en el anterior, se muestran el número de parroquias muestreadas de la provincia de estudio, el número de explotaciones, así como el número de animales muestreados, y positivos y negativos a brucelosis, tomando en cuenta como prueba confirmatoria el ELISA competitivo.

Cuadro 4. RESULTADO GENERAL SOBRE LA DETERMINACIÓN DE BRUCELOSIS EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Parroquias	Número de Explotaciones	Número de animales	Animales positivos a <i>Brucella abortus</i>	
			+	-
El Esfuerzo	26	1259	0	1259
Valle Hermoso	4	115	0	115
Alluriquin	5	105	0	105
Puerto Limón	3	327	0	327
Santa María del Toachi	16	784	0	784
San Jacinto del Búa	1	29	0	29
Santo Domingo	9	937	1	936
TOTAL	64	3556	1	3555

Así mismo, en el cuadro 5, se muestran los resultados de las dos pruebas realizadas para la determinación de *Brucella abortus*. En este caso, sólo fueron sometidas a ELISAc las muestras de suero que a su vez fueron positivas a Rosa de Bengala.

Cuadro 5. RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA DETERMINACIÓN DE *Brucella abortus* EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.

Rosa de Bengala (RB)		
Animales testados	Positivo	Negativo
3556	16	3540
ELISA competitivo		
Animales testados	Positivo	Negativo
16	1	15

De 3556 animales analizados en la investigación, se determinó 16 reactores positivos a la prueba de Rosa de Bengala, de los cuales, 1 animal fue positivo a la prueba de ELISA competitivo. El ELISA competitivo permite diferenciar entre anticuerpos vacunales y anticuerpos por infección de *Brucella abortus*



(AGROCALIDAD, 2009), con lo cual se supone que el animal positivo está o estuvo expuesto a la bacteria patógena, dado que no ha sido vacunado.

El fundamento de la prueba Rosa de Bengala y la prueba de aglutinación tamponada en placa (buffered antigen plate agglutination test) para diagnóstico de *Brucella* spp es la misma, siendo una aglutinación con antígenos acidificados donde se utiliza diferente tinción (Nielsen, K. 2002) y diferentes concentraciones de células (OIE, 2009). En el caso del diagnóstico de *Brucella* spp. a través de la prueba de tarjeta, Nielsen, K. *et al.*, 1996 citaron un valor de especificidad del 97,9%. En una revisión en la cual se comparan diferentes métodos diagnósticos, se cita una especificidad del Rosa de Bengala del 86,3% (Gall, D. y Nielsen, K. 2004) De este modo, al no ser la prueba de aglutinación 100% específica, podrían explicarse los falsos positivos obtenidos a través de Rosa de Bengala en nuestro estudio.

Gall, D. y Nielsen, K. (2004) citan una sensibilidad para la prueba ELISAc del 97,7%, superior a la de la prueba Rosa de Bengala de 81,2%; esta característica brinda una mayor seguridad para detectar verdaderos positivos a través de ELISAc, razón por la cual se ha usado como prueba confirmatoria a los positivos a Rosa de Bengala.

Teniendo en cuenta la prueba ELISA competitivo, con los datos obtenidos se observa un porcentaje del 0,028% de afección en la población de estudio. El animal infectado corresponde a una hembra de aproximadamente 20 meses de edad de raza Brahman, la cual se encontraba ubicada en una explotación intensiva. Dicha explotación se encuentra cerca de un corral comunal, donde se comercializan animales al mercado nacional, y el propietario de la explotación se dedica a la comercialización de ganado, pudiendo ser éste un motivo que pueda explicar esta observación. Cabe recalcar que el animal en cuestión por medidas sanitarias preventivas fue sacrificado en un camal supervisado por personal de AGROCALIDAD.

De acuerdo a AGROCALIDAD (2009), la zona en la que se ha realizado el presente estudio, pertenece a la región 2, donde se cita una alta prevalencia, con

valores de 4,20% y 10,62%. En un estudio realizado por Vera, N. (2013), en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, se evidenció un 14,5% de positivos con Rosa de Bengala (58 animales) y un 12,5% a través de PCR (50 animales), de un total de 400 muestras bovinas analizadas. Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo están muy por debajo de este rango, aunque únicamente se usaron pruebas serológicas, y no confirmatorias como es la PCR.

## **C. RESULTADOS OBTENIDOS DE LA ENCUESTA REALIZADA**

### **1. Animales analizados.**

El número total de animales analizados en la investigación fueron de 3556 para brucelosis y 3725 para tuberculosis. Dichos animales se distribuyeron por parroquias en un total de siete, tal como se muestran en el gráfico 1 (tuberculosis) y gráfico 2 (brucelosis). Las parroquias que formaron parte del estudio fueron las siguientes: El Esfuerzo, Santo Domingo, Santa María del Toachi, Puerto Limón, Valle Hermoso, Alluriquín, San Jacinto del Búa. En todas las parroquias se muestrearon el mismo número de animales y explotaciones, exceptuando en Alluriquin, donde para la brucelosis se analizaron 5 predios con un total de 105 animales, y en el caso de tuberculosis se analizaron 14 predios con un total de 274 animales.

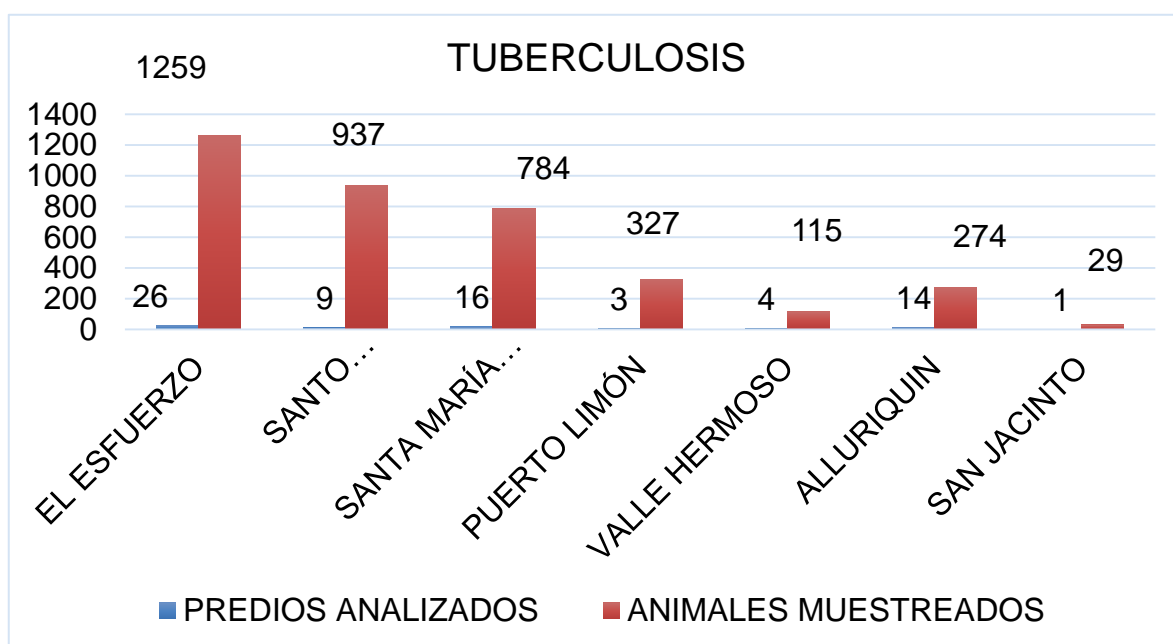
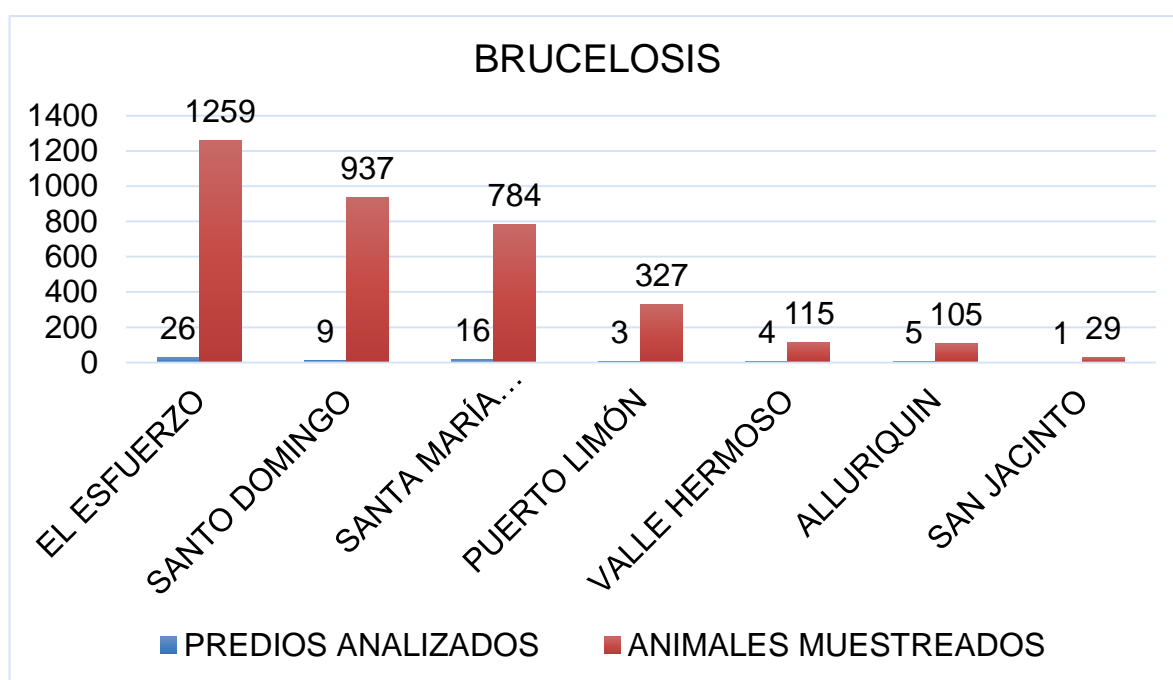


Gráfico 1. Animales y predios analizados para tuberculosis.



## 2. El propietario posee otros predios.

De los datos analizados, el 9,59 % (7/73), de propietarios ingresados al programa sí poseen otros predios. Aunque debido a los resultados diagnósticos obtenidos no se han podido realizar asociaciones con factores de riesgo, el hecho de que la

Gráfico 2 Animales y predios analizados para brucelosis

mayoría de propietarios encuestados no posean otros predios (90,41%; 66/73 predios), podría favorecer que no se produzcan movimientos entre explotaciones en gran medida, y contribuir por tanto al control de las enfermedades estudiadas (gráfico 3).

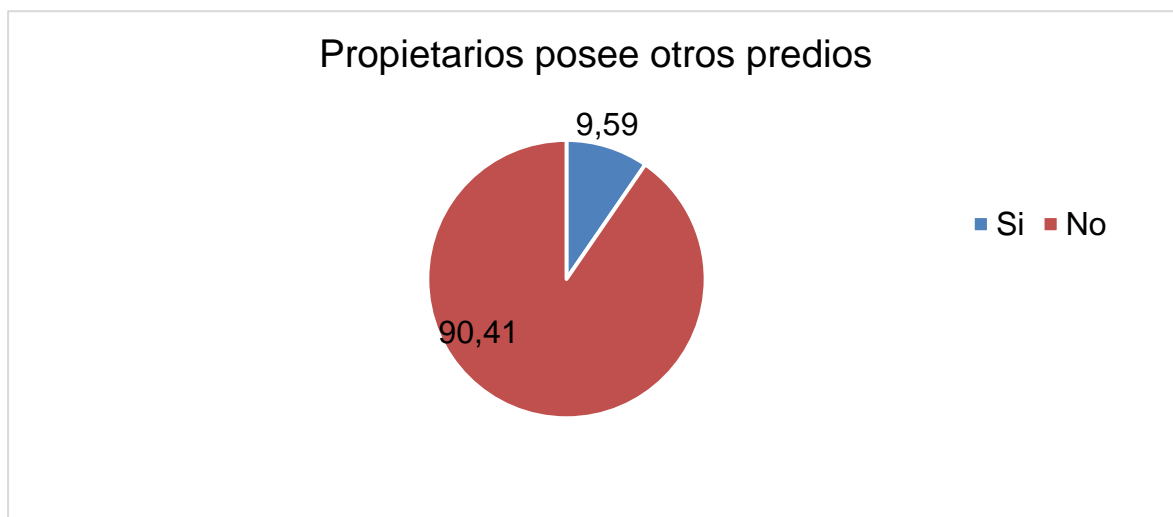
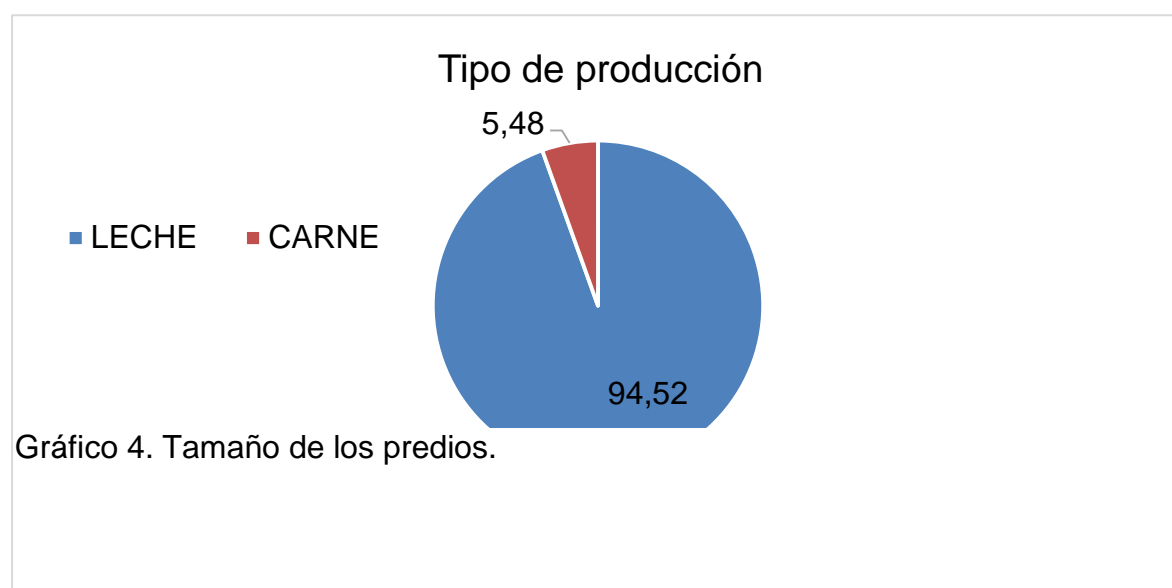


Gráfico 3. Posesión de más de un predio por parte de los ganaderos encuestados.

### 3. Tamaño de los predios.

De los predios analizados un 4,11% (3/73), corresponden a propiedades de 1-10 ha (Quinta), un 12,33% (9/73), corresponde a propiedades superiores a 100 ha (Hacienda), siendo la mayor parte de los predios (83,56%; 61/73), de 10,1-99,9 ha (Finca), (gráfico 4).

#### 4. Tipo de producción.



De las ganaderías incluidas en la investigación, un 94,52% (69/73 predios), de las mismas se dedicaban a la producción de leche, mientras que un 5,48% (4/73 predios), está enfocada a la producción de carne (gráfico 5). No se encontró ninguna explotación con una orientación productiva mixta.

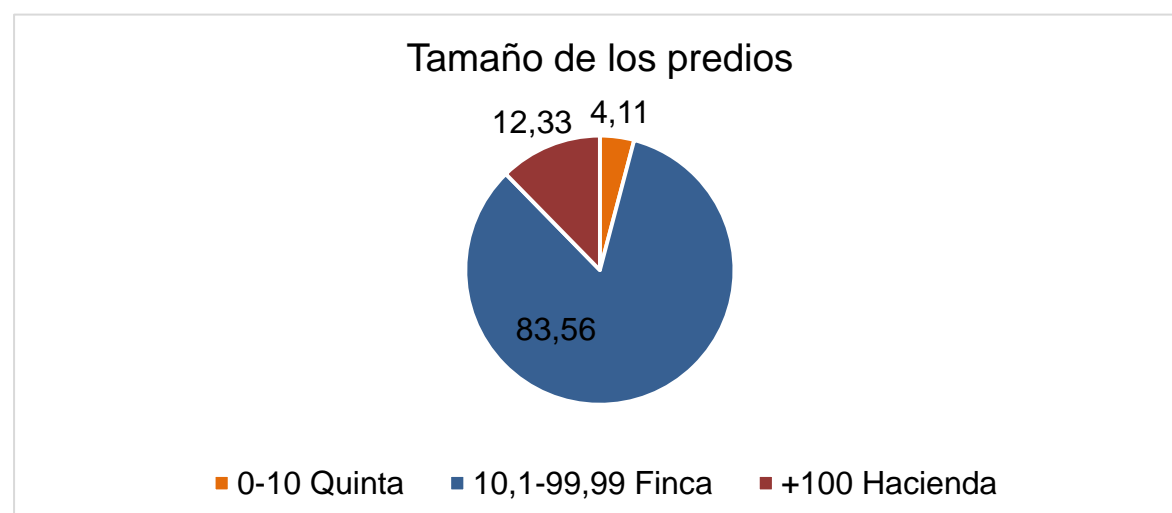




Gráfico 5. Tipo de producción.

#### 5. Sistema de explotación.

Al determinar el tipo de explotación, se identifica la mayoría (98,63%; 72/73 predios), con un manejo extensivo, mientras que el 1,39% (1/73 predios), posee un manejo intensivo (estabulado), (gráfico 6). No se identificaron explotaciones de tipo semi-intensivo.

#### 6. Destino de leche.

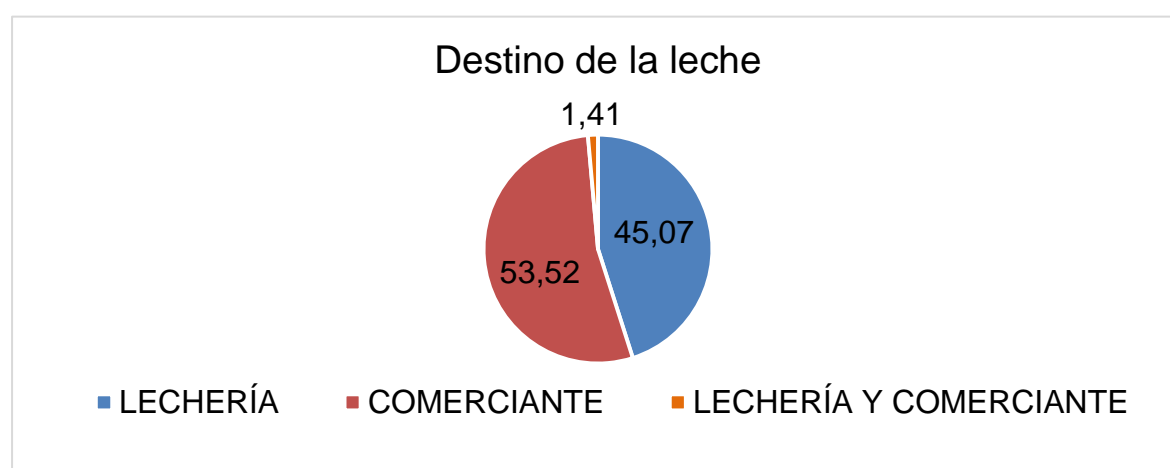
Gráfico 6. Sistema de explotación.

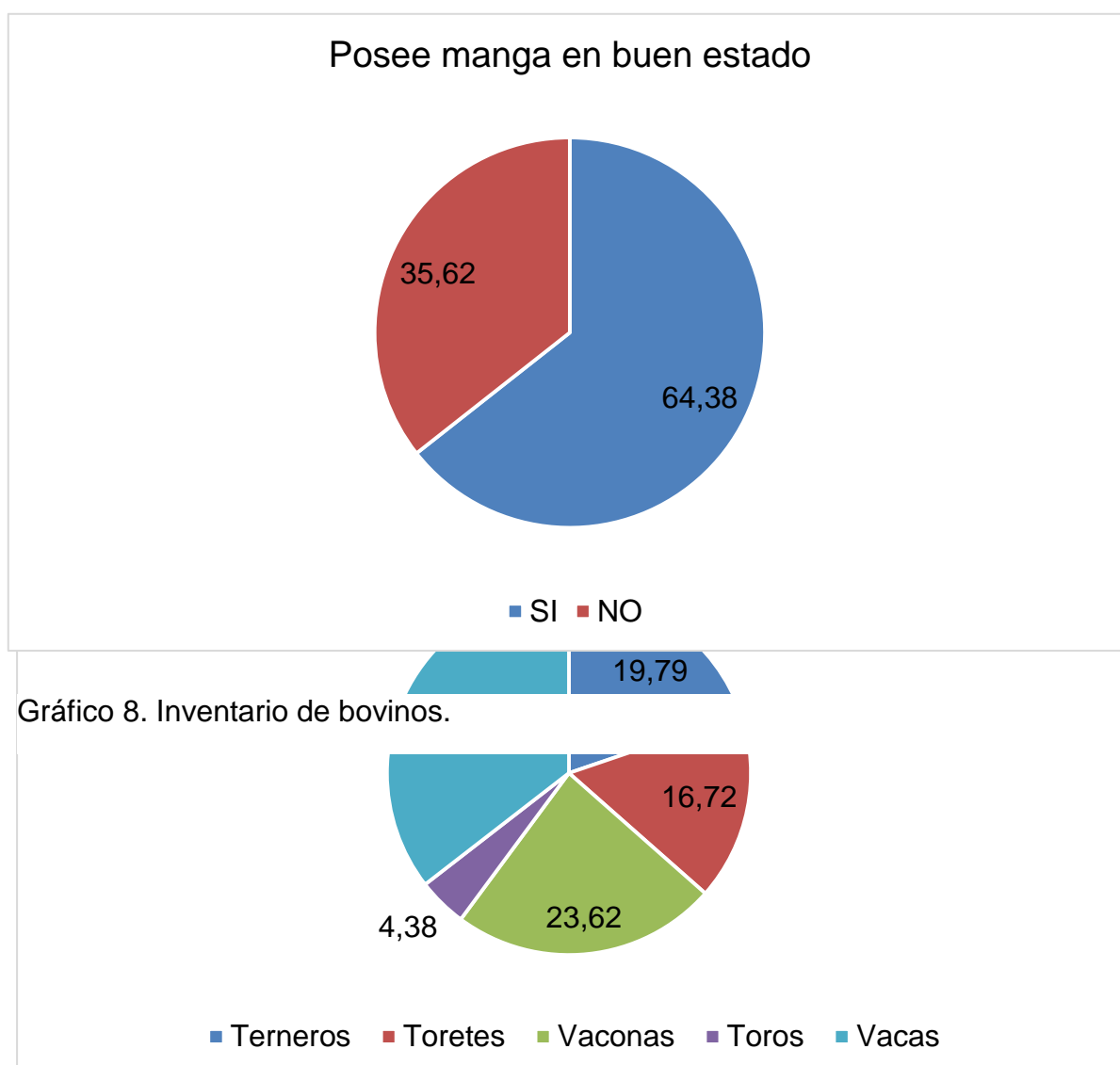
De las explotaciones dedicadas a la producción lechera, un 45,07% (32/71 predios), destinaban su producto a lecherías de la zona, mientras que un 53,52% (38/71 predios), era destinado a comerciantes, entendidos como intermediarios. Se observó que un 1,41% (1/71 predios), de las explotaciones encuestadas destinaban su producto tanto a lechería como a comerciantes (gráfico 7). Aunque no se recogió en la encuesta, consta que en todas las explotaciones se destina un pequeño porcentaje de la leche para autoconsumo, lo cual podría constituir un riesgo para la salud pública, si no es sometida a tratamientos térmicos.

## 7. Inventario de bovinos.

Del total de animales analizados, la mayoría pertenece a la categoría vacas (35,49%; 1322/3725), seguida de la categoría de vaconas (23,62%; 880/3725); el tercer lugar pertenece a la categoría de terneros con un 19,79% (737/3725). Los machos estuvieron en minoría, con un 16,72% (623/3725), pertenecientes a la categoría de toretes y finalmente para la categoría de toros correspondió a un porcentaje del 4,38% (163/3725), (gráfico 8).

Gráfico 7. Destino de la leche.





## 8. Poseen manga en buen estado.

Casi un tercio de los predios analizados mantiene su manga en buen estado (64,38%; 47/73) y un 35,62% (26/73), no poseen manga en buen estado o más aún no poseen en su propiedad (gráfico 9).

Los propietarios de las ganaderías deben brindar las condiciones necesarias a los técnicos para un buen muestreo, entre las que se encuentra poseer una manga en buen estado, encontrándose que incumplen este aspecto más de un tercio.



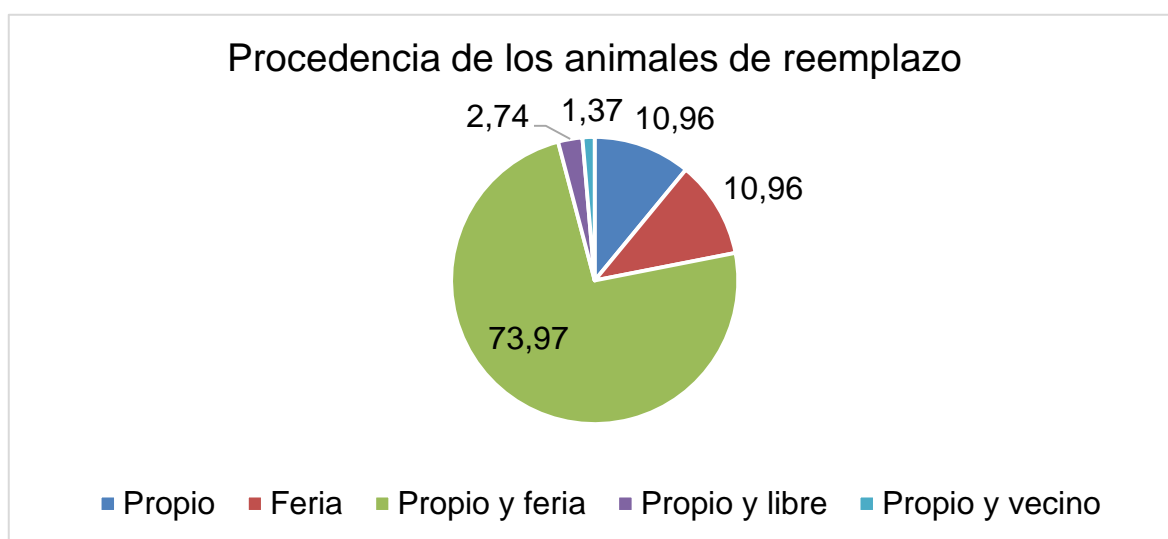


Gráfico 10. Procedencia de animales de reemplazo.

#### 9. Procedencia de los animales de reemplazo.

En cuanto a la procedencia de los animales de reemplazo se observa que la implementación de buenas prácticas de parte de los ganaderos en este aspecto es deficiente. Sólo el 10,96% de explotaciones (8/73), tiene reemplazo interno (sí se lleva un buen control) y un 2,74% (2/73 predios), realiza reemplazo con animales propios y procedentes de predios libres de las enfermedades estudiadas (predios certificados). Sin embargo, la mayoría de explotaciones realizan prácticas inadecuadas como la adquisición de animales propios y de la feria (73,97%; 54/73 predios), animales sólo de feria (10,96%; 8/73 predios) y animales provenientes de animales propios y del vecino (1,37%; 1/73), (gráfico 10).

Estos datos evidencian un alto riesgo de contagio por prácticas inadecuadas. El ganadero que ingresa al programa, garantiza que sus animales serán adquiridos de predios que se encuentren certificados, para un mejor control de las enfermedades.

#### 10. Arrienda sus potreros a otros ganaderos.

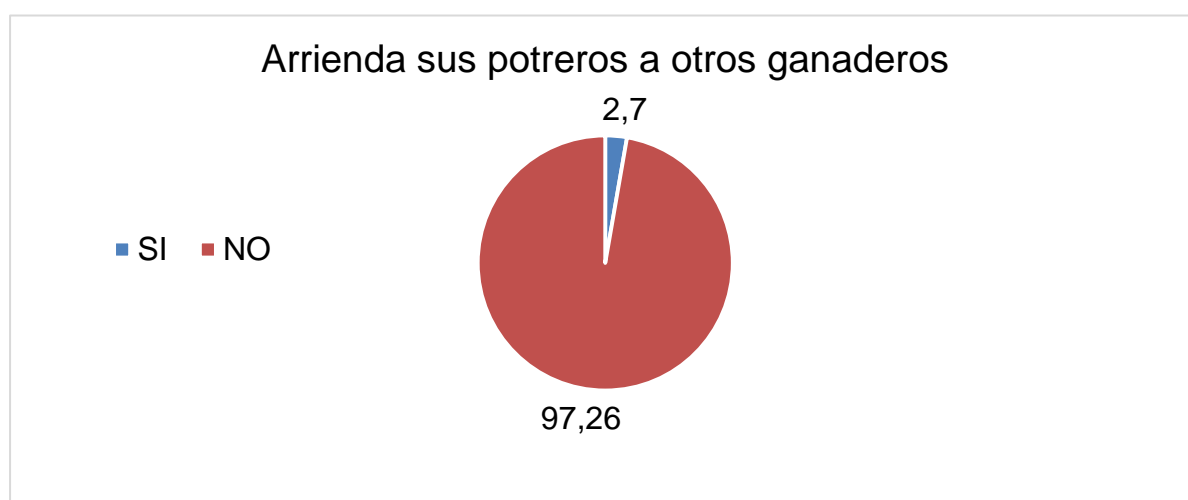
El 97.73% (71/73), de ganaderos mencionaron que no arriendan sus potreros a otros ganaderos, mientras que el 2,74% (2/73 animales), restante, admite que en sus potreros rondan animales ajenos, motivo por el cual, puede aumentar la posibilidad de infección (gráfico 11).

#### 11. Utiliza el estiércol como abono.

Del total de ganaderos, un 2,74% (2/73), utiliza el estiércol bovino como abono, dando un destino a las heces de los animales, mientras que la mayoría (97,26%; 71/73 predios), no lo usa para actividades agrícolas (gráfico 12). El manejo inadecuado del estiércol, además de producir contaminación del suelo, podría

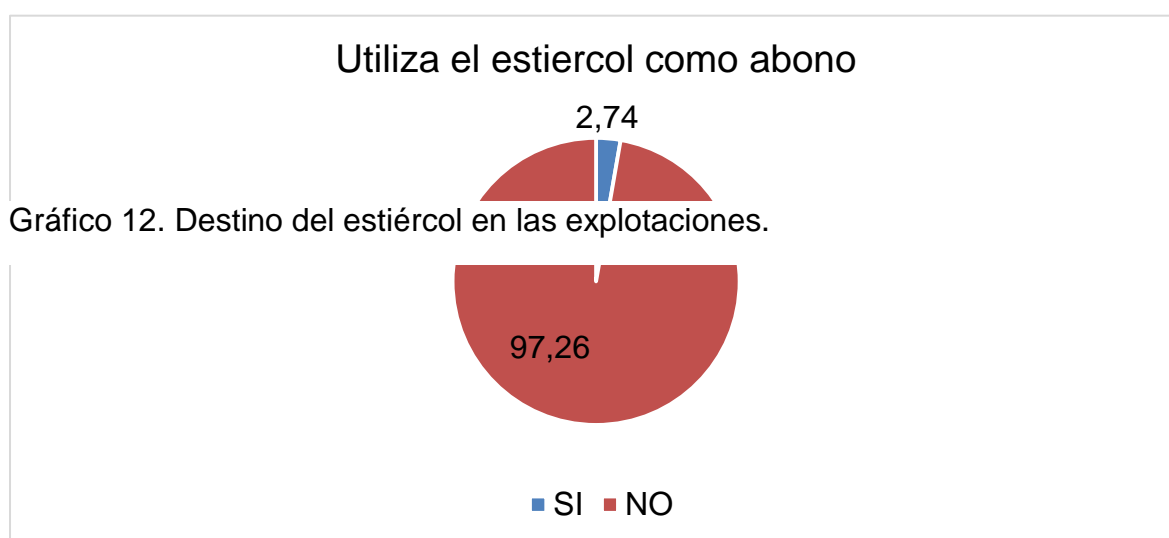
Gráfico 11. Arrendamiento de potreros a otros ganaderos.

constituir una forma de diseminación de varias enfermedades pecuarias.



## 12. Procedencia del agua de bebida de los animales.

El 83,56% (61/73 predios), de las explotaciones brinda a los animales agua de bebida que proviene del río, mientras que en las restantes explotaciones se obtiene de pozos, siendo esta segunda opción una forma más segura de proteger



a los animales de intoxicaciones y contagios (gráfico 13).

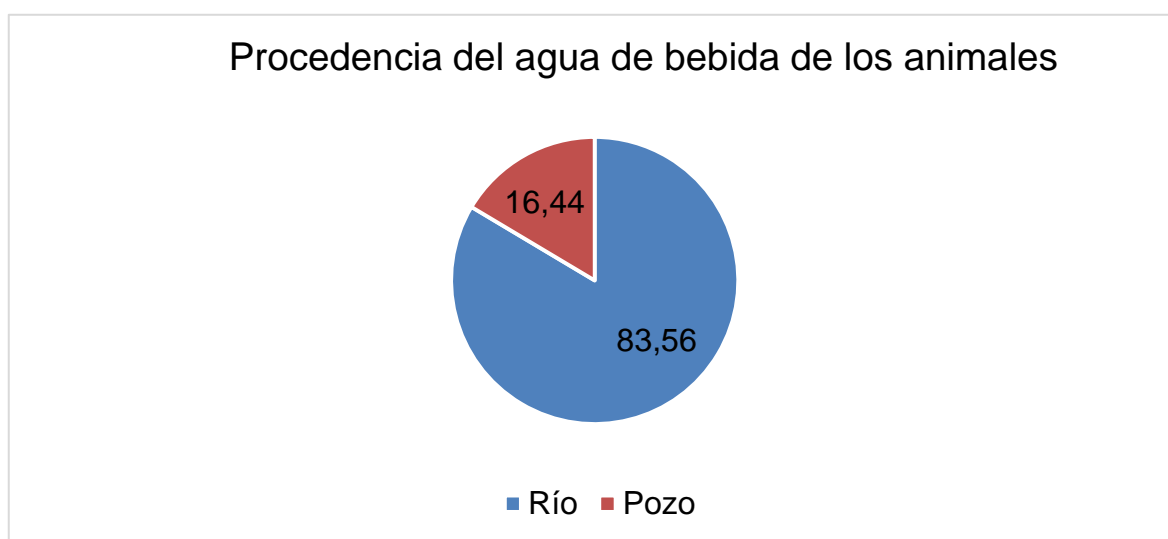


Gráfico 13 Procedencia del agua de bebida en las explotaciones.

### 13. Vacunas aplicadas a los animales.

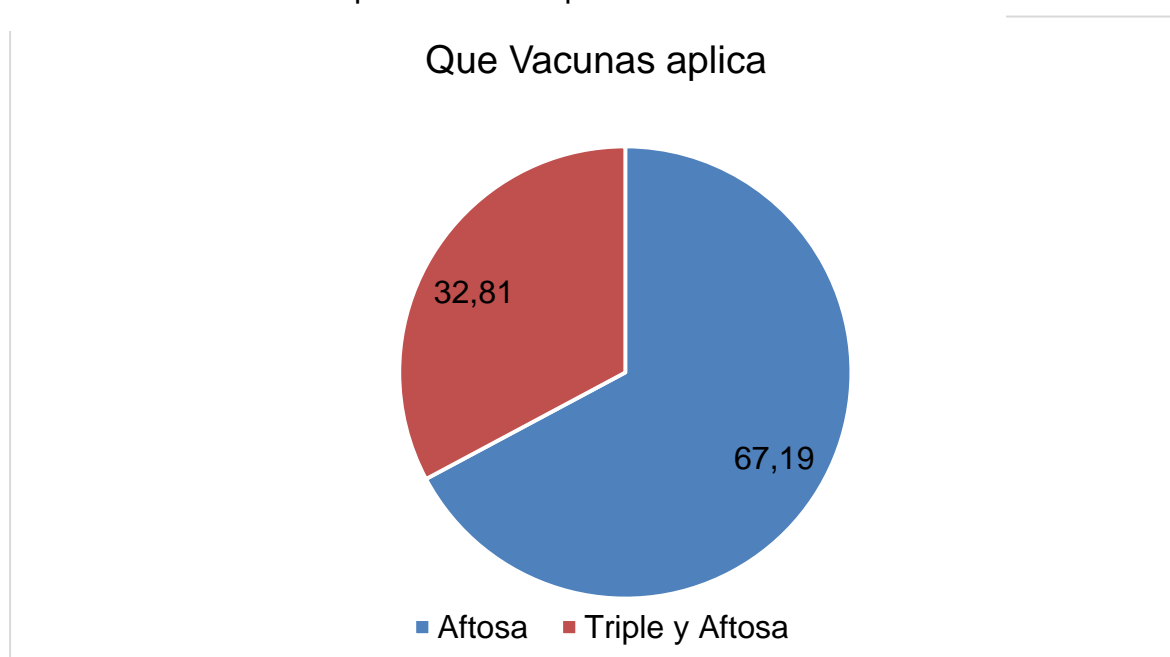
Un 67,19% (43/64), de ganaderos vacuna sólo para la “Fiebre Aftosa” a sus animales, mientras que un 32,81% (21/64 predios), vacuna para “Carbunco Sintomático”, “Edema Maligno” y “Pasteurellosis” (triple) y además “Fiebre Aftosa”. Ninguna explotación encuestada aplicaba vacuna para *Brucella abortus* (gráfico 14).

#### 14. Sistema de reproducción empleado.

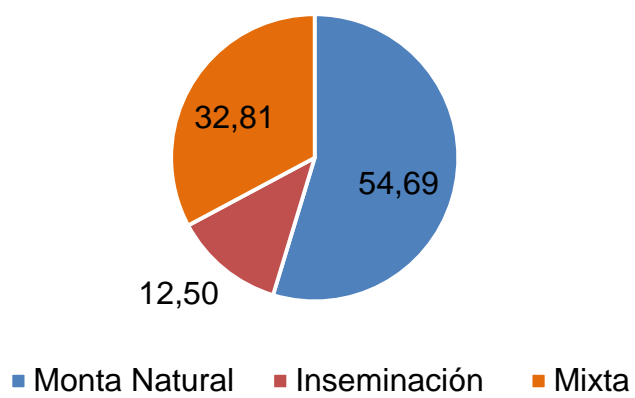
Por tradición, un 54,69% (35/64 predios), de ganaderos plantean un sistema de reproducción a sus animales por monta natural, mientras que el 32,81% (21/62 predios), plantean una reproducción mixta, donde tanto se realiza monta natural como inseminación artificial; sólo el 12,5% (8/64 predios). restantes, aplican inseminación artificial (gráfico 15).

Gráfico 14. Vacunas aplicadas en la explotación.

Gráfico 15 Sistema de reproducción empleado



Sistema de reproducción empleado



## V. CONCLUSIONES.

1. Los datos obtenidos sugieren que en referencia a tuberculosis y brucelosis bovina, la situación actual en los predios analizados pertenecientes a la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas se encuentran controlada.
2. Se identificaron los predios libres para brucelosis, logrando un total de 64 predios analizados, encontrándose sólo un predio infectado, pudiendo ser la causa de este hallazgo positivo el mercadeo de ganado por parte del propietario y la existencia de un corral comunal cercano.
3. El total de predios analizados en referencia a tuberculosis resultó libre.
4. La seroprevalencia de *Brucella abortus* obtenida en el presente estudio a nivel de explotación fue del 1,56%, y a nivel de animales correspondió al 0,028%.
5. La prevalencia evidenciada a través de la prueba de la intradermoreacción para determinar tuberculosis bovina en la muestra estudiada fue del 0%.
6. De acuerdo a los resultados obtenidos, no se pueden realizar asociaciones con factores de riesgo de las enfermedades estudiadas.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Realizar acciones preventivas y próximos estudios en toda la zona con el fin de monitorear y lograr una eventual declaración de la provincia libre de las enfermedades (brucelosis y tuberculosis).
2. Inspeccionar las explotaciones objeto de estudio previamente a cualquier análisis, para facilitar el posterior manejo, identificación, y realización de las pruebas en los animales.
3. Aplicar de forma adecuada un protocolo de trazabilidad de animales positivos a las pruebas realizadas, para evitar suspicacias por parte de los ganaderos que pongan en riesgo sanitario a otros hatos o a la salud pública.
4. Realizar labores de educación a los ganaderos para comprometerlos al cuidado de los animales futuros, y a que eviten la compra de animales provenientes de explotaciones no certificadas como libres de las enfermedades estudiadas y tomen medidas de prevención adecuadas (vacunación de brucelosis en este caso).



## VII. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. ABALOS, P. Y RETAMAL, P. (2004). Tuberculosis: ¿Una zoonosis re-emergente? Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Pedro\\_Abalos/publication/237515129\\_Tuberculosis\\_una\\_zoonosis\\_re-emergente/links/00b495376dc844a309000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Pedro_Abalos/publication/237515129_Tuberculosis_una_zoonosis_re-emergente/links/00b495376dc844a309000000.pdf)
2. ACHA, P. (2001). Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ra ed. Edit. O. P. S. Washington. pp. 28 – 52.
3. ACHA, P. Y PZYFRES, B. (2003). Zoonosis y enfermedades transmisibles al hombre y animales. 3ra ed. OMS. Washington DC. pp. 266-280.
4. AGROCALIDAD, 2009. Programa de Control de Brucelosis Bovina. Dirección de salud animal: Programas específicos. Disponible en: [http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa\\_nacional\\_brucelosis\\_bovina.pdf](http://www.agrocalidad.gob.ec/agrocalidad/images/pdfs/sanidadanimal/programa_nacional_brucelosis_bovina.pdf)
5. ÁLVAREZ, E. (2001). Situación de la Brucelosis en América: Panorama general. Diagnóstico de Brucelosis animal. México. pp. 9-15.
6. ALVAREZ, J Y GARCÍA P, (2000), Incidencia, etiología y epidemiología de la brucelosis en una área rural de la provincia de Lleida. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/resp/v74n1/brucelos>.
7. ARESTEGUI, M Y GUALTIERI, C. (2005). Brucelosis bovina. Cátedra de Sueros y Vacunas. Facultad de Cs. Veterinarias UNR. México.
8. ARICAPA, H., *et al.* (2008). Prevalencia de Brucelosis Bovina, Equina y Humana en Caldas -Colombia, Sur América. Biosalud, pp. 75 – 87
9. BLASCO, J. (2001). Profilaxis Medica de la Brucelosis en los rumiantes: Las vacunas clásicas y las nuevas vacunas. En: Diagnóstico de Brucelosis

animal. Díaz, E. Hernández, L., Valero, G. y Arellano, B., México. pp. 158-176

10. BASANTES, I. V., & MALDONADO, J. D. (2013). Análisis de factores de riesgo y determinación de la prevalencia de Tuberculosis Bovina utilizando técnicas estadísticas Bayesianas en las provincias de Cotopaxi, Carchi e Imbabura. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1274/1/T-UCE-0014-34.pdf>
  
11. CAMPERO, C. (2000). Las enfermedades reproductivas en los bovinos: ayer y hoy. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/29621/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/29621/Documento_completo.pdf?sequence=1).
  
12. CASTRO, H; GONZALEZ, S y PRAT, M. (2005). Brucelosis: una revisión práctica. 2005, pp. 203-216. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572005000200008&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572005000200008&lng=es&nrm=iso). ISSN 1851-6114.
  
13. CDC, (2012). División de Eliminación de la Tuberculosis. Centro Nacional para el VIH / SIDA, Hepatitis Viral, ETS y TB. Eliminación de la TB Prueba cutánea de la tuberculina. Disponible en: [http://www.salud.gov.pr/Dept-de-Salud/Documents/Tuberculosis/Documento%20G\\_Prueba%20de%20Tuberculina.pdf](http://www.salud.gov.pr/Dept-de-Salud/Documents/Tuberculosis/Documento%20G_Prueba%20de%20Tuberculina.pdf)
  
14. DÍAZ, E. (2013). Epidemiología de la brucelosis causada por *Brucella melitensis*, *Brucella suis* y *Brucella abortus* en animales domésticos. Disponible en: <http://www.oie.int/doc/ged/D12404.PDF>
  
15. FRANCO, M., *et al.* (2007). Human Brucellosis. *Lancet Infect Dis.* 7. p. 775.

16. GALL, D., & NIELSEN, K. (2004). Serological diagnosis of bovine brucellosis: a review of test performance and cost comparison. *Revue scientifique et technique* (International Office of Epizootics), 23(3), pp. 989-1002.
17. KAHN, C. (2007). *Manual de Merck de Veterinaria*, OCEANO, p. 2509.
18. KANTOR, C. *et al.*, (2008). Bovine tuberculosis in Latin America and the Caribbean: current status, control and eradication programs. Disponible en:  
[http://www.sciencedirect.com/science?\\_ob=ShoppingCartURL&\\_method=add&\\_eid=1-s2.0-0378113594900426&originContentFamily=serial&\\_origin=article&\\_ts=1463672840&md5=e7f5db68900e419049edb2540c197db3](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ShoppingCartURL&_method=add&_eid=1-s2.0-0378113594900426&originContentFamily=serial&_origin=article&_ts=1463672840&md5=e7f5db68900e419049edb2540c197db3).
19. LANGENEGGER, C. y OLIVEIRA, J. (1981). Tratamento da tuberculose bovina com isoniazida. *Pesq. Vet. Bras.* 1: 1-6. lesions in Irish herds. *Vet Rec* 1998; pp. 141: 222-224.
20. LÓPEZ, H y MERINO, F. (2002). *Brucella*. Disponible en:  
<http://biblioweb.dgsca.unam.mex/libros/microbios/Cap7>.
21. MACÍAS, G. (2003). Prevalencia de Brucelosis, Tuberculosis, Leptospirosis y Ántrax en los Bovinos. Tesis Doctoral, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Técnica de Manabí, Portoviejo-Manabí, pp.43-80.
22. MANCERA, A., (2001). Prueba de Antígeno Brucelar Amortiguado o de Tarjeta. En: Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. y Arellano, B., México. pp. 80-81.
23. Ministerio de Salud Pública (2015). Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Recuperado de: <http://www.salud.gob.ec/direccion-nacional-de-vigilancia-epidemiologica/>

24. MIÑO, B. Y PICO, V. (2003). Estudio de la presencia de Brucelosis Bovina, en explotaciones ganaderas del cantón Mejía. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Central del Ecuador. Quito-Ecuador. pp. 63-66
25. NIELSEN, K. (2002). Diagnosis of brucellosis by serology. *Veterinary microbiology*, 90(1), pp. 447-459.
26. NIELSEN, K. Hi, *et al.* (1996). Comparison of enzyme immunoassays for the diagnosis of bovine brucellosis. *Preventive Veterinary Medicine*, 1996, vol. 26, no 1, pp. 17-32.
27. OIE, 2009. Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. Disponible en: <http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf>
28. OIE, 2008. Manual de la OIE sobre animales terrestres, Capítulo 2.4.7.- Tuberculosis Bovina. p. 7.
29. OIE, 2015. Código Sanitario para los Animales Terrestres. Capítulo 8.4. Infección por *Brucella abortus*, *B. melitenis* y *B. suis*. Recuperado de: [www.oie.int](http://www.oie.int) (Consultado:15 de diciembre de 2015)
30. OPS (Organización Panamericana de la Salud). 1986. Programa de adiestramiento en Salud Animal para América Latina. Cuarentena Animal. Bogotá, Colombia. OMS/OPS/BID. pp. 315 – 318.
31. OPS (Organización Panamericana de la Salud). 2015. Situación de salud en las Américas. Indicadores básicos 2015. p. 8. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=2470&Itemid=2003&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=2470&Itemid=2003&lang=es)
32. OTERO, F., *et al.* (2003). Identificación de bovinos portadores de *Mycobacterium bovis* aplicando técnicas inmunológicas y moleculares.

Disponible en: <http://new.medigraphic.com/cgi-bin/resumen.cgi?IDARTICULO=5543>

33. PÉREZ-GUERRERO, LAURA *et al.* 2008. Epidemiología molecular de las tuberculosis bovina y humana en una zona endémica de Querétaro, México. *Salud pública Méx*, Cuernavaca, v. 50, n. 4, pp. 286-291.  
Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342008000400006&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342008000400006&lng=es&nrm=iso). accedido en 15 mayo 2016.
34. PROAÑO, F., *et al.* (2009). Comparative intradermal tuberculin test in dairy cattle in the north of Ecuador and risk factors associated with bovine tuberculosis. *The American journal of tropical medicine and Hygiene* pp. 81:1103 -1109.
35. RADOSTITS, O. *et al.* (2002). *Medicina veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* 9a ed. Edit. Mc Graw-Hill Interamericana. España. pp. 1076-1085.
36. RIVERA, H. (2001). Causas frecuentes de aborto bovino. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 117-122. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v12n2/a14v12n2.pdf>
37. RODRÍGUEZ VALIN, M<sup>a</sup> ELENA *et al* (2001). La brucelosis como enfermedad profesional: estudio de un brote de transmisión aérea en un matadero,  
Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1135-57272001000200008&lng=es&nrm=iso](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57272001000200008&lng=es&nrm=iso). ISSN 1135-5727.
38. SAEGERMAN, A. *et al.* 2011. Bovine brucellosis. En *Infectious and Parasitic Diseases of Livestock*. Lefèvre, J. Blancou, R. Chermette, y G. Uilenberg. Reino Unido pp. 91

39. SESA. 2002. Servicio ecuatoriano de Sanidad Animal. Control de Brucelosis Bovina. Manual Técnico, Quito- Ecuador.
40. SUÁREZ, F., 2001. Introducción. En: Diagnóstico de Brucelosis animal. Díaz, E., Hernández, L., Valero, G. y Arellano, B. Toluca, México: INIFAP. pp. 1-7.
41. TORRES, P. (2006). Situación de la tuberculosis bovina en la República Argentina. Buenos Aires, SENASA, pp. 1-21.
42. VERA, N. 2013. Incidencia de la Brucelosis (*Brucella abortus*) en la provincia Santo Domingo de los Tsáchilas. Tesis de Grado. Carrera de Ingeniería Agropecuaria. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo-Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/562>
43. YOUNG, E. 1994. *Brucella* species. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principales and Practice of Infectious Disease. New York: Churchill Livingstone, pp. 2.053-2.060.
44. ZAMBRANO, M. 2013. Determinación de Tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) con la prueba tuberculina en área de influencia del Cantón El Carmen., Tesis de Grado. Ingeniería Agropecuaria. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Ecuador. Disponible en: <http://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/604>

# **ANEXOS**



## ANEXO 1 Encuesta realizada para Brucelosis

DE BRUCELOSIS BOVINA									
I. IDENTIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN DEL PREDIO									
1. Fecha (día/mes/año):					2. Nombre del encuestado:				
3. Nombre del predio:					4. Nombre del propietario:				
5. Número de cédula del propietario:					6. Parroquia:				
6. Provincia:					7. Cantón:				
9. Coordenadas UTM (GPS):					8. Parroquia:				
10. Datos de contacto de la finca					10. Teléfono:				
Celular:					E-mail:				
11. El propietario posee otros predios?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>					12. Nombre del predio:				
13. Provincia:					14. Cantón:				
15. Parroquia:									
II. DATOS GENERALES DEL PREDIO									
16. Superficie del predio: Superficie total: <input type="text"/> ha					Superficie pastos: <input type="text"/> ha				
17. Tipo de producción: 1. Leche: <input type="checkbox"/> 2. Carne: <input type="checkbox"/> 3. Mixta: <input type="checkbox"/>					18. Tipo de explotación: 1. Extensiva: <input type="checkbox"/> 2. Intensiva: <input type="checkbox"/> 3. Soguelo: <input type="checkbox"/>				
19. Destino de la leche 1. Consumo en predio: <input type="checkbox"/> 2. Lechería: <input type="checkbox"/> 3. Comerciante: <input type="checkbox"/>									
20. Inventario de bovinos: Terneros: <input type="text"/> Termeras: <input type="text"/>					Toretes: <input type="text"/> Vacas: <input type="text"/>				
21. Inventario otros animales: Ovinos: <input type="text"/> Caninos: <input type="text"/>					Caprinos: <input type="text"/> Felinos: <input type="text"/>				
					Porcinos: <input type="text"/> Equinos: <input type="text"/>				
22. Cerramientos externos en buen estado: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					23. Existe pediluvio para: 1. Vehículos: <input type="checkbox"/> 2. Animales: <input type="checkbox"/> 3. Humanos: <input type="checkbox"/>				
24. Control del ingreso de personas: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					25. Control del ingreso de animales: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
26. Tienen identificación individual los bovinos?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					27. Posee manga, embudo o brete en buen estado?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
III. MANEJO GENERAL DE ANIMALES Y POTREROS									
28. Procedencia de los animales de reemplazo: 1. Del mismo predio: <input type="checkbox"/> 2. De un predio libre: <input type="checkbox"/> 3. Vecino: <input type="checkbox"/> 4. Feria: <input type="checkbox"/> 5. Comerciante: <input type="checkbox"/>									
29. Categoría de animales que adquiere: 1. Terneros: <input type="checkbox"/> 2. Termeras: <input type="checkbox"/> 3. Vacas: <input type="checkbox"/> 4. Toretes: <input type="checkbox"/> 5. Vacas: <input type="checkbox"/> 6. Toros: <input type="checkbox"/>									
30. Utiliza pastos comunales?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					31. Arrienda sus potreros a otros ganaderos?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
32. Arrienda potreros de otros predios?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					33. Utiliza el estiércol como abono en potreros?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
34. Procedencia del agua de bebida de los animales: 1. Río: <input type="checkbox"/> 2. Acequia: <input type="checkbox"/> 3. Pozo: <input type="checkbox"/> 4. Cisterna: <input type="checkbox"/> 5. Lluvia: <input type="checkbox"/>									
35. Lleva animales a ferias de exposición?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					36. Toma medidas de desinfección al regreso de la feria: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
37. Tienen los trabajadores animales en el predio?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					38. Están dentro del programa de predios libres?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
IV. ASPECTOS SANITARIOS									
39. Nombre del veterinario responsable:					Teléfono: <input type="text"/>				
Celular: <input type="text"/>					E-mail: <input type="text"/>				
40. Frecuencia de la visita del veterinario: 1. Semanal: <input type="checkbox"/> 2. Quincenal: <input type="checkbox"/> 3. Mensual: <input type="checkbox"/> 4. A pedido: <input type="checkbox"/>									
IV.1 VACUNACIÓN									
41. Existe un calendario de vacunación?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					42. Que vacunas aplica?: 1. Triple: <input type="checkbox"/> 2. Aftosa: <input type="checkbox"/> 3. Cepa 19: <input type="checkbox"/> 3. RB51: <input type="checkbox"/>				
43. Fecha de primera vacunación contra brucelosis en el predio (día/mes/año):					44. Vacuna utilizada: 1. Cepa 19: <input type="checkbox"/> 2. RB51: <input type="checkbox"/>				
45. Fecha de última vacunación contra brucelosis (día/mes/año):					46. Vacuna utilizada: 1. Cepa 19: <input type="checkbox"/> 2. RB51: <input type="checkbox"/>				
47. Procedencia de las vacunas utilizadas: 1. Almacén de la localidad: <input type="checkbox"/> 2. Almacén de la ciudad: <input type="checkbox"/> 3. Veterinario: <input type="checkbox"/>									
IV.2 REPRODUCCIÓN									
48. Sistema de reproducción empleado: 1. Monta natural: <input type="checkbox"/> 2. Inseminación: <input type="checkbox"/> 3. Mixta: <input type="checkbox"/> 4. Transferencia de Embriones: <input type="checkbox"/>									
49. Procedencia de las pajuelas utilizadas: 1. Predio: <input type="checkbox"/> 2. Veterinario: <input type="checkbox"/> 3. Almacén: <input type="checkbox"/> 4. Comerciante: <input type="checkbox"/>									
50. Usa un lugar específico para pariciones?: 1. Potrero: <input type="checkbox"/> 2. Corral: <input type="checkbox"/> 3. Parideras: <input type="checkbox"/> 51. Desinfecta estos lugares?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>									
IV.3 PATOLOGÍAS (ocurridas en el último año)									
52. Se han producido abortos en los dos últimos años, entre 6 y 8 meses de gestación?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					44. Cuántos?: <input type="text"/>				
53. Destino de los tejidos abortados: 1. Entierra: <input type="checkbox"/> 2. Incinera: <input type="checkbox"/> 3. Bota a la basura: <input type="checkbox"/> 4. Deja en el lugar: <input type="checkbox"/> 5. Consume: <input type="checkbox"/>									
54. Existen retenciones de placenta?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					55. Existe nacimiento de terneros débiles?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
56. Existen problemas de esterilidad en machos o hembras?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					57. Existen metritis post parto?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
58. Presencia de hinchazón en articulaciones?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					59. Existe epididimitis u orquitis en machos?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>				
IV.4 PRUEBAS DIAGNÓSTICAS									
60. Ha realizado pruebas de brucelosis en leche de su predio?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>					61. Resultados: 1. Positivos: <input type="checkbox"/> 2. Negativos: <input type="checkbox"/>				
62. Ha realizado pruebas sanguíneas de brucelosis en animales de su predio?: 1. Si: <input type="checkbox"/> 2. No: <input type="checkbox"/>									
63. Cuales?: 1. Rosa de Bengala: <input type="checkbox"/> 2. ELISA: <input type="checkbox"/>					64. Resultados: 1. Positivos: <input type="checkbox"/> 2. Negativos: <input type="checkbox"/>				
65. Destino de los animales positivos: 1. Permanecen en el predio: <input type="checkbox"/> 2. Camal: <input type="checkbox"/> 3. Venta: <input type="checkbox"/>									
66. Nombre del Laboratorio: 1. ANIMALAB: <input type="checkbox"/> 2. LIVEXLAB: <input type="checkbox"/> 3. VETELAB: <input type="checkbox"/> 4. ASO. HOLSTEIN: <input type="checkbox"/> 5. AGROCALIDAD: <input type="checkbox"/> 6. OTRO: <input type="checkbox"/>									
V. FOTOGRAFÍA Y CROQUIS DEL PREDIO									
FOTOGRAFÍA					CROQUIS				





## ANEXO 2 Encuesta realizada para Tuberculosis

 <b>Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca</b>		<b>Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la Calidad del Agro</b> <b>AGROCALIDAD</b> <b>FORMULARIO DE INSPECCIÓN Y SEGUIMIENTO A PREDIOS LIBRES DE TUBERCULOSIS BOVINA</b>		 <b>AGROCALIDAD</b> <small>AGENCIA ECUATORIANA DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO</small>
<b>I. IDENTIFICACIÓN Y LOCALIZACIÓN DEL PREDIO</b>				
1. Fecha (día/mes/año):		2. Nombre del encuestado:		
3. Nombre del predio:		4. Nombre del propietario:		
5. Número de cédula del propietario:				
6. Provincia:		7. Cantón		8. Parroquia:
9. Coordenadas UTM (GPS):		Uso o zona:		X: Y:
10. Datos de contacto de la finca		Teléfono:		
Celular:		E-mail:		
11. El propietario posee otros predios?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>		12. Nombre del predio:		
13. Provincia:		14. Cantón:		15. Parroquia:
<b>II. DATOS GENERALES DEL PREDIO</b>				
16. Superficie del predio: Superficie total: ha		Superficie pastos: ha		
17. Tipo de producción: 1. Leche: <input type="checkbox"/> 2. Carne: <input type="checkbox"/> 3. Mixta: <input type="checkbox"/>		18. Tipo de explotación: 1. Extensiva: <input type="checkbox"/> 2. Intensiva: <input type="checkbox"/> 3. Soguelo: <input type="checkbox"/>		
19. Destino de la leche 1. Consumo en predio: <input type="checkbox"/> 2. Lechería: <input type="checkbox"/> 3. Comerciante: <input type="checkbox"/>				
20. Inventario de bovinos:		Toretes: Toros: Vacas:		
Termeros: Termeras:		Vaonas: Vacas:		
21. Inventario otros animales:		Ovinos: Caprinos: Porcinos: Bubalinos: Caninos: Felinos: Equinos:		
22. Cerramientos externos en buen estado: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>		23. Existe pediluvio para: 1. Vehículos: <input type="checkbox"/> 2. Animales: <input type="checkbox"/> 3. Humanos: <input type="checkbox"/>		
24. Control del ingreso de personas: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>		25. Control del ingreso de animales: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>		
26. Tienen identificación individual los bovinos?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>		27. Posee manga, embudo o brete en buen estado?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>		
<b>III. MANEJO GENERAL DE ANIMALES Y POTREROS</b>				
28. Procedencia de los animales de reemplazo: 1. Del mismo predio: <input type="checkbox"/> 2. De un predio libre: <input type="checkbox"/> 3. Vecino: <input type="checkbox"/> 4. Feria: <input type="checkbox"/> 5. Comerciante: <input type="checkbox"/>				
29. Categoría de animales que adquiere: 1. Termeros: <input type="checkbox"/> 2. Termeras: <input type="checkbox"/> 3. Vaonas: <input type="checkbox"/> 4. Toretes: <input type="checkbox"/> 5. Vacas: <input type="checkbox"/> 6. Toros: <input type="checkbox"/>				
30. Utiliza pastos comunales?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 31. Arrienda sus potreros a otros ganaderos?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>				
32. Arrienda potreros de otros predios?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 33. Utiliza el estiércol como abono en potreros?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>				
34. Procedencia del agua de bebida de los animales: 1. Río: <input type="checkbox"/> 2. Acequia: <input type="checkbox"/> 3. Pozo: <input type="checkbox"/> 4. Cisterna: <input type="checkbox"/> 5. Lluvia: <input type="checkbox"/>				
35. Lleva animales a ferias de exposición?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 36. Toma medidas de desinfección al regreso de la feria: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>				
37. Tienen los trabajadores animales en el predio?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 38. Están dentro del programa de predios libres?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>				
<b>IV. ASPECTOS SANITARIOS</b>				
39. Nombre del veterinario responsable:		Teléfono:		
Celular:		E-mail:		
40. Frecuencia de la visita del veterinario: 1. Semanal: <input type="checkbox"/> 2. Quincenal: <input type="checkbox"/> 3. Mensual: <input type="checkbox"/> 4. A pedido: <input type="checkbox"/>				
<b>IV. I. PATOLOGÍAS (ocurridas en el último año)</b>				
41. Sus animales han tenido pérdidas de peso inexplicables: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 42. Han tenido sus animales pérdidas de apetito? 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>				
43. Han tenido sus animales problemas respiratorios: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 44. Presencia de tos intermitente: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>				
45. Abultamientos en cuello, pecho, ubres u otras partes del cuerpo?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 46. Presencia de fiebre fluctuante?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/>				
<b>IV. II. PRUEBAS DIAGNÓSTICAS</b>				
47. Ha realizado pruebas de tuberculosis en leche de su predio?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 48. Resultados: 1. Positivos: <input type="checkbox"/> 2. Negativos: <input type="checkbox"/>				
49. Ha realizado pruebas con tuberculina en animales de su predio?: 1.Si: <input type="checkbox"/> 2.No: <input type="checkbox"/> 50. Resultados: 1. Positivos: <input type="checkbox"/> 2. Negativos: <input type="checkbox"/>				
51. Destino de los animales positivos: 1. Permanecen en el predio: <input type="checkbox"/> 2. Camal: <input type="checkbox"/> 3. Venta a comerciante: <input type="checkbox"/> 4. Venta en feria: <input type="checkbox"/>				
52. Nombre del laboratorio: 1. ANIMALAB: <input type="checkbox"/> 2. LIVEXLAB: <input type="checkbox"/> 3. VETELAB: <input type="checkbox"/> 4. ASO. HOLSTEIN: <input type="checkbox"/> 5. AGROCALIDAD: <input type="checkbox"/> 6. OTRO: <input type="checkbox"/>				
<b>V. FOTOGRAFÍA Y CROQUIS DEL PREDIO</b>				
FOTOGRAFÍA		CROQUIS		
NOMBRE DEL VETERINARIO ENCUESTADOR:		FIRMA DEL ENCUESTADO:		

### ANEXO 3 Encierre de los animales

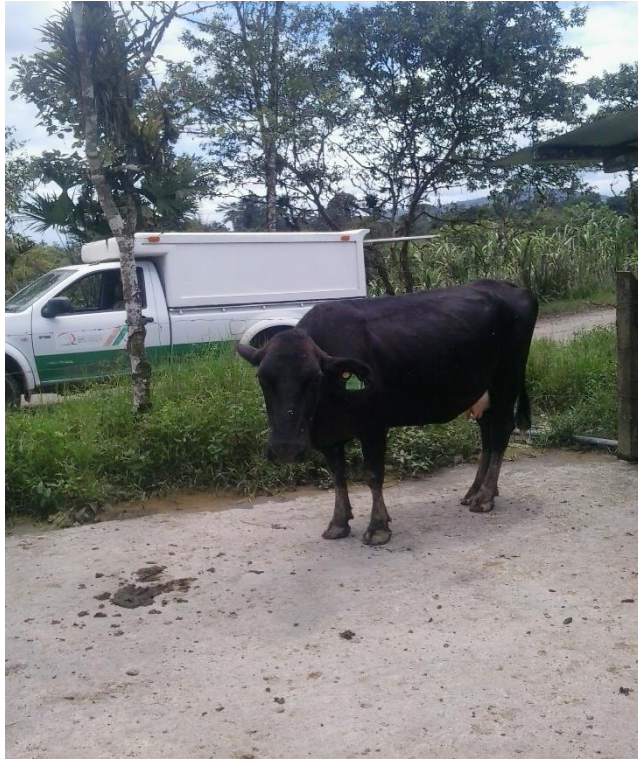


### ANEXO 4 Preparación del material





## ANEXO 6 Identificación del animal



## ANEXO 5 Medición del pliegue



## ANEXO 8 Inoculación de la tuberculina



## ANEXO 7 Recolección de la muestra de sangre

